Untersuchung von Kaffeewachs mittels Säulenchromatographie, Dünnschichtchromatographie und Zonenschmelzen

von

Ingbert Haselmann

aus Nürnberg

Erlangen 1963

1963 № 188

Untersuchung von Kaffeewachs mittels Säulenchromatographie, Dünnschichtchromatographie und Zonenschmelzen

Der Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
zur Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von
Ingbert Haselmann
aus Nürnberg
1963

Als Dissertation genehmigt von der
Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 27. November 1963

Dekan: Universitätsprofessor Dr. H. Behrens
Berichterstatter: Privatdozent Dr. H. Schildknecht
Berichterstatter: Universitätsprofessor Dr. G. Hesse

Diese Arbeit wurde in der Zeit von Juli 1961 bis Februar 1963 am Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg angefertigt.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Privatdozent Dr. H. Schildknecht, danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit und für sein stetiges, förderndes Interesse bei deren Ausführung.

Weiterhin möchten wir der Firma "Kaffee-Hag", Bremen, für die Überlassung des Kaffeewachses danken.

Meiner lieben Frau

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536528_0047

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung

Einleitung 1

Bisherige Arbeiten und Ergebnisse 2

Eigene Arbeiten und Ergebnisse. Problemstellung ... 6

Das Kaffeewachs 7

Die Vortrennung des Wachses 8

Die Aufarbeitung der Extrakte 9

Die Reagenzien und Reaktionen 11

Die Auswertung der Nachweisreaktionen mittels Randlochkarten 13

Kennzeichnung und Identifizierung der Substanzen .. 16

Anhang 33

Experimentelles

Auftrennung des Wachses 35

I) Aufarbeitung von E 1 36

II) Aufarbeitung von E 2 44

III) Aufarbeitung von E 3 47

IV) Aufarbeitung von E 4 49

V) Aufarbeitung von E 5 55

Die zum Nachweis verwendeten Reagenzien und die Reaktionen der einzelnen Substanzen 56

Identifizierung einzelner Substanzen durch Auswertung von Verbrennungsanalysen, IR-Spektren und Reaktionen 69

Technische Einzelheiten 74
(Mikrozonenschmelzen, Säulenchromatographie, Dünnschichtchromatographie, Aufnahme der IR-Spektren)

Literaturverzeichnis 77

Zusammenfassung

Aus dem Kaffeewachs konnten neben einem aus Pflanzenteilen bestehenden Rückstand durch aufeinanderfolgende Extraktion mit verschiedenen Lösungsmitteln vier Extrakte erhalten werden. Jeder dieser Extrakte wurde durch Lösungsmittel und Chromatographie an Aluminiumoxid- oder Kieselgelsäulen in einzelne Substanzen aufgetrennt. Insgesamt wurden 99 Substanzen erhalten. Davon erwiesen sich 81 als einheitliche Verbindungen. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie, bestimmter Reaktionen, von IR-Spektren und Verbrennungsanalysen sowie des MZS-Verfahrens ließen sich 22 der einheitlichen Verbindungen mit Sicherheit und weitere 7 mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit identifizieren. Aufgrund einer Reihe von Reaktionen konnten in den übrigen 52 Verbindungen die funktionellen Gruppen bestimmt werden. Dadurch ergab sich die Möglichkeit, auch diese Verbindungen zu klassifizieren.

Durchschnittlich 25 Reaktionen wurde jede der Substanzen unterworfen. Da bei einer tabellarischen Anordnung der Reaktionsergebnisse eine Auswertung infolge der Unübersichtlichkeit derartig umfangreicher Tabellen erschwert ist, wurde für jede Substanz eine Randlochkarte angelegt, in die die positiv ausgefallenen Reaktionen eingetragen und nach einem bestimmten Schlüssel eingekerbt wurden. Auf diese Weise wird eine vergleichende Auswertung wesentlich vereinfacht.

Einleitung

Je nach der Sorte, Herkunft, den klimatischen Einflüssen und der Behandlung variiert die chemische Zusammensetzung der rohen Kaffeebohne. Gewöhnlich besteht mehr als die Hälfte der Bohne aus wasserunlöslichen Stoffen wie Lipoiden, Proteinen und hochmolekularen Verbindungen, wozu nicht allein die Zellulose zu rechnen ist. Wasserlösliche, in der Bohne nachgewiesene Stoffe sind dagegen Purine, Chlorogensäure und Zucker.

Die vom Fruchtfleisch befreiten rohen Kaffeebohnen werden erst durch den Röstprozeß zum eigentlichen Genußmittel. Bei Temperaturen von 200-220° bildet sich das geschätzte Kaffeearoma. Es ist bedingt durch viele mehr oder weniger flüchtige Stoffe, deren Gesamtheit früher ziemlich vage als "Koffeon" oder "Koffeol" bezeichnet wurde. Der typische Kaffeegeruch soll von schwefelhaltigen Verbindungen wie Furfurylmerkaptan kommen (47).

Die physiologische Wirkung des Kaffees wird dem Koffein zugeschrieben, das zu etwa 1-2% in den Bohnen enthalten ist, und zwar in der Hauptsache als Kalium-Coffein-Doppelsalz der Chlorogensäure. Coffein wirkt nicht nur auf Herz und Kreislauf, sondern auch zentral erregend sowohl auf die Großhirnrinde als auch auf bestimmte Rückenmarkzentren. Nicht immer sind diese Wirkungen erwünscht und vielen Menschen verleiten sie den Kaffeegenuß. Es war deshalb schon frühzeitig Ziel der Kaffeeindustrie, coffeinfreien Kaffee herzustellen. Dieses Ziel erreichte in den Jahren 1906-1910 die "Bremer Kaffee-Handelsgesellschaft" mit ihrem "Kaffee-Hag".

Die Entziehung des Coffeins aus der Bohne erfolgt in zwei Schritten. Zuerst werden die rohen Bohnen gewaschen und mit überhitztem Wasserdampf behandelt bis der Wassergehalt 18-30% beträgt. Dann werden die gequollenen Bohnen mit organischen Lösungsmitteln, vor allem halogenierten Kohlenwasserstoffen, extrahiert. Dadurch geht das Coffein weitgehendst in Lösung, so daß die entcoffeinierte Bohne nur noch etwa 0.1% dieses Alkaloids enthält. Außer Coffein lösen sich auch Lipoide und vor allem das Kaffeewachs, das die Oberfläche der Bohnen überzieht und rund 0.1% des Rohkaffees ausmacht.

Nach beendeter Extraktion werden die Bohnen vom Lösungsmittel durch Erhitzen befreit und dem Röstprozeß zugeführt.

Der Rückstand des zur Rückgewinnung des Lösungsmittels abdestillierten Extraktes ist eine dunkelbraune, stark nach Kaffee riechende, feste Masse, das sogenannte Kaffeewachs.

Bisherige Arbeiten und Ergebnisse

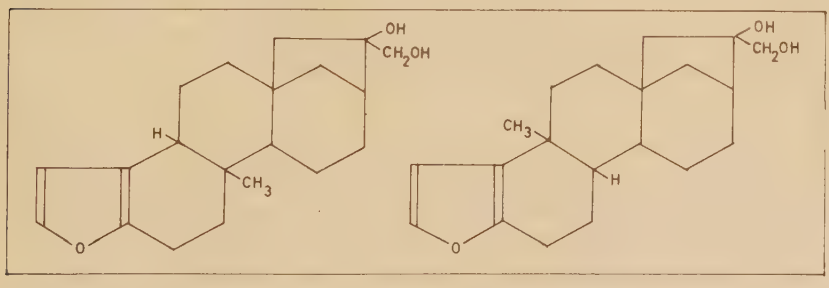
Die ersten Untersuchungen über Kaffeebohnen stammen von ROBIQUET und BOUTRON (1) aus dem Jahre 1837, Sie fanden fettes Öl und vegetabilisches Wachs. Das Öl konnte mit Äther aus den Bohnen extrahiert werden, in denen es zu 10% enthalten ist. Weitere Angaben werden nicht gemacht.

Bis in die ersten Jahre unseres Jahrhunderts folgten dann Arbeiten verschiedener Autoren (2)-(9), die sich weiter mit dem Kaffeefett befaßten, ohne jedoch außer der Bestimmung einiger Konstanten wesentliche Erkenntnisse zu bringen. Eine Ausnahme hiervon bildet die umfangreiche Arbeit von JUCKENACK und HILGER (10). Diese Autoren stellten fest, daß das Fett sowohl aus rohem als auch geröstetem Kaffee aus Glyceriden der Öl- und Palmitinsäure besteht. Daneben isolierten sie auch noch ein Phytosterin aus dem Unverseifbaren.

Im Jahre 1910 erschien dann die erste wichtige Arbeit "Über das fette Öl und das Wachs der Kaffeebohnen", veröffentlicht von MEYER und ECKERT (11). Von ihnen wurden über die Lithiumsalze die Säuren Carnauba-, Palmitin-, Caprin-, Daturin-, Sativin-, Öl- und Linolsäure dargestellt. Aus dem vom Fett befreiten Wachs konnten sie Coffein gewinnen. Ebenfalls mit den Fettsäuren beschäftigte sich dann 1929 v.NOEL (12), der mit Ausnahme von Caprin- und Sativinsäure die gleichen Säuren wie MEYER und ECKERT fand. Insbesondere wies er auf das in reichem Maße im Kaffeeöl vorhandene Unverseifbare hin, das er dann zusammen mit DANNMEYER (13) untersuchte. Außer Phytosterin fanden sie eine hochdrehende, kristalline Substanz, die sie als Ergosterin ansahen, aber niemals identifizieren konnten. Weiter mit dem Unverseifbaren beschäftigten sich 1932 BENGIS und ANDERSON (14), aus dem sie eine neue Substanz, das stark linksdrehende Kahweol $C_{19}H_{26}O_3$ isolieren konnten. In einer zweiten Arbeit (15) gewannen sie dann aus dem Kaffeefett

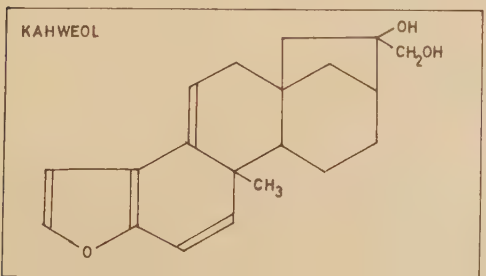
Öl-, Linol-, Palmitin-, Stearin- und Tetracosansäure. Den Nachweis der bisher bekannten Fettsäuren erbrachten nochmals HEIDUSCHKA und KUHN (16).

1938 begann dann eine intensivierte Untersuchung des Unverseifbaren des Kaffeeöls. An erster Stelle sind die Arbeiten von SLOTTA und NEISSER (17)(18) zu nennen, die aus dem Unverseifbaren neben Sitosterin und Kahweol als Hauptbestandteil eine neue Verbindung, das Cafesterol $C_{20}H_{28}O_3$ isolieren konnten. Nach ihrer Mitteilung soll dieses Cafesterol östrogene Wirksamkeit besitzen. Daraufhin wurde das Cafesterol von verschiedenen Forschern wie HAUPTMANN et al., FRANCA, WETTSTEIN et al., CHAKRAVORTY et al., FERRARI, DJERASSI et al., BENDAS und DJERASSI und HAWORTH et al. eingehend untersucht (19) - (26). Von HAUPTMANN wurde die Behauptung von der östrogenen Wirksamkeit des Cafesterols widerlegt, und WETTSTEIN benannte das Cafesterol in Cafestol um, nachdem kein Steringerüst nachgewiesen werden konnte. DJERASSI et al. nahmen UV- und IR-Spektren des Cafestols auf, und BENDAS und DJERASSI schlugen als erste 1955 eine Strukturformel vor. Diese Formel wurde zwei Jahre Später von HAWORTH und JOHNSTONE hinsichtlich der Stellung der Methylgruppe geändert.



BENDAS, DJERASSI HAWORTH, JOHNSTONE

Cafestol



DJERASSI und Mitarbeitern gelang auch die Aufklärung der Struktur des Kahweols, dem ständigen Begleiter des Cafestols (27).

Das Kahweol unterscheidet sich vom Cafestol nur durch zwei zusätzliche Doppelbindungen. Von KAUFMANN und Mitarbeitern (27a) wurden Cafestol und Kahweol im Rahmen der Arbeiten über die Lipoide der Kaffeebohne weiterhin untersucht. Sie konnten im Kaffeeöl die Verbindungen Cafestol-monopalmitat, -monostearat, -monoarachinat, -monobehenat, -monooleat und -monolinolat durch papierchromatographischen Vergleich mit den entsprechenden synthetisch dargestellten Diterpenestern nachweisen. Ferner wurden Kahweol sowie Kahweolmonoacetat und -diacetat rein dargestellt. Außerdem stellten sie fest, daß die Diterpenester beim Rösten der Rohbohnen keine Veränderung erfahren.

Neben diesen speziellen Arbeiten liefen aber auch noch andere, die sich mit dem Kaffeeöl als Ganzem beschäftigten. WAGNER (28) erhielt bei der Aufarbeitung des aus den Kaffeebohnen ausgezogenen wachsartigen Teiles Palmitinsäure, Öl- und Linolsäure, Phytosterin, Coffein, Kahweol, sowie Fettsäure-Harzverbindungen und Vaseline. Daneben wies er auf höhermolekulare Fettsäuren, auf ein Oxydationsprodukt des Kahweols und auf Phosphatide hin. Ebenso umfassend sind die Arbeiten von BAUER und NEU (29), die neben Sitosterin auch Stigmasterin fanden und aus dem Unverseifbaren Coffeol $C_{20}H_{28}O_3$, Coffeasterol $C_{26}H_{44}O$ und den Kohlenwasserstoff $C_{29}H_{60}$ erhielten. Weiterhin bestimmten sie quantitativ Fettsäuren und das Phytosterin.

Von SABALITSCHKA und v.SCHÜCHING (3o) wurde aus dem Unverseifbaren eine Substanz $C_{19}H_{26}O_3$ isoliert, die eine Carbonylgruppe, eine Hydroxylgruppe und zwei Doppelbindungen enthält. Sie vermuteten, daß es sich bei dieser Substanz um ein sehr reines Kahweol handelt.

Den bisher bekannten Säuren wurden von KHAN und BROWN (31) einige weitere hinzugefügt, nämlich Linolensäure und C_{20}-Säuren. Zum ersten Mal wurde von DE G.PAULA (32) die Säulenchromatographie erwähnt, mit deren Hilfe ihm die Isolierung von Tocopherol gelang. Außerdem enthält das Kaffeeöl nach seiner Mitteilung Carotinoide, Kohlenwasserstoffe und Harze.

Obwohl die folgenden Arbeiten eigentlich nichts mit dem Kaffeeöl oder -wachs direkt zu tun haben, sollen sie doch der Vollständigkeit halber erwähnt werden. Bei der Wasserdampf-

destillation von Santoskaffee erhielt ERDMANN (33) eine braune, intensiv nach Kaffee riechende Flüssigkeit, das Kaffeol, die sauer reagiert, stickstoffhaltig ist und aus der er Valeriansäure, Essigsäure und Furfuralkohol isolieren konnte. Dieses Kaffeol wurde von GRAFE (34) weiteruntersucht. Außer den genannten Verbindungen stellte er Phenole mit Kreosotgeruch, Aceton, Furanderivate und stickstoffhaltige Substanzen mit den Reaktionen eines Pyridinderivates fest. Von MICHL und HABERLER (35) wurde aus den Kaffeebohnen neben Coffein auch Adenin, Guanin, Xanthin und Hypoxanthin isoliert und identifiziert. Mit den Aminosäuren befaßte sich BARBERA (36), der im Hydrolysat von rohem und geröstetem Kaffee eine Reihe dieser Verbindungen nachweisen konnte. PICTET und BRANDENBERGER (37) extrahierten rohe und geröstete Bohnen und isolierten aus dem Extrakt neben Chlorogensäure einige Phenolkarbonsäuren, die durch Papierchromatographie identifiziert wurden. Polyphenolische Bestandteile wurden von NATARAJAN (38) nachgewiesen. Bei der gaschromatographischen Analyse des Kaffeearomas wurde von RHOADES (39), SULLIVAN et al. (4o), ZLATKIUS und SIVETZ (41) eine Anzahl von flüchtigen Bestandteilen identifiziert, nämlich Acetaldehyd, Propionaldehyd, Butyraldehyd, Isobutyraldehyd, Isovaleraldehyd, Aceton, Methyläthylketon, Methanol, Äthanol, Dimethylsulfid, Methylmerkaptan, α-Furfurylmerkaptan, Schwefelwasserstoff, Methylformiat, Diacetyl, Acetylpropionyl, Furan und Thiophen.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Untersuchungen über das Kaffeewachs findet sich bei WARTH (42). Danach setzt sich das Wachs ungefähr folgendermaßen zusammen:
2o% Tannoltetracosanat; 5o-52% Glyceride der Palmitin-, Behen- und Lignocerinsäure; 18-19% Glyceride der Öl-, Linolsäure; 1% freie Palmitin-, Behen- und Cerotinsäure; 3% Sterine und Pseudosterine wie Stigmasterin, Coffeasterol, Kahweol und Cafestol; geringe Mengen Phosphatide.

Eigene Arbeiten und Ergebnisse. Problemstellung

Wie aus der Literaturzusammenstellung hervorgeht, wurde das Kaffeewachs bisher weder durch Säulenchromatographie aufgetrennt, noch der Destillation unterworfen. In einer vorhergehenden Arbeit (43) wurde das Wachs unter diesen beiden Gesichtspunkten bearbeitet. Dabei wurden durch Säulenchromatographie insgesamt 143 Substanzen erhalten, die mit wenigen Ausnahmen Gemische darstellen. Diese ließen sich nicht mehr weiter auftrennen, konnten aber mittels Dünnschichtchromatographie und verschiedener Reaktionen weitgehend in Polaritätsgruppen eingeteilt werden wie Kohlenwasserstoffe, Alkohole, Phenole, Aldehyde, Ketone, Säuren, Ester und terpenähnliche Verbindungen. Daneben waren Sitosterin, Sitosterinester, Colamin- und Serinphosphatide nachweisbar.

Während die chromatographische Auftrennung ein schonendes Verfahren war, kann die Destillation des Wachses schon als Pyrolyse bezeichnet werden. Man erhält ein gelbliches und dickliches Destillat, das autoxydabel ist und in dem 14 Substanzen isoliert und als Paraffine, Olefine, Ammoniak, primäres Amin, Palmitinsäure und Coffein identifiziert wurden. Die Paraffine sind nur gering, die Olefine dagegen zu rund 35% und andere ungesättigte, terpenähnliche Verbindungen zu 15% im Destillat enthalten. Die Fettsäuren, die etwa 2o% ausmachen, bestehen zu 5% aus Palmitinsäure.

Für eine ausgesprochen technische Verwertung des Kaffeewachses dürfte diese pyrolytische Destillation die besten Möglichkeiten bieten.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es nun, die im Kaffeewachs vorhandenen Verbindungen unversehrt zu isolieren und soweit als möglich zu identifizieren. Dabei soll eine Vortrennung mit Hilfe von Lösungsmitteln erreicht werden. Die erhaltenen Extrakte werden dann weiter durch Lösungsmittel und Säulenchromatographie aufgeteilt. Die somit gewonnenen Substanzen werden dünnschichtchromatographisch auf ihre Einheitlichkeit getestet, wenn nötig nochmals chromatographiert, und schließlich durch verschiedene Reagenzien, IR-Spektren und Dünnschichtchromatographie identifiziert.

Das Kaffeewachs

Das Kaffeewachs stellt eine dunkelbraune Masse dar, die von einem grauweißen Belag überzogen ist und intensiv, beinahe unangenehm nach Kaffee riecht. In der Kälte ist es ziemlich spröde und zerbricht mit muscheligem Bruch. Es kann nur durch Schaben mit dem Messer zerkleinert werden.

Das Wachs löst sich besonders leicht und vor allem vollständig in Chloroform. Weniger gut löslich ist es in Benzol und von anderen Lösungsmitteln wird es entweder nur teilweise oder überhaupt nicht gelöst. Das Wachs schmilzt naturgemäß nicht scharf, sondern erweicht allmählich bei 45° und ist bei 60° verflüssigt. Bei der Liebermann-Burchard-Reaktion entstehen nacheinander die Farben Dunkelrot, Violett, Blauviolett, Grün und Braun. Weder durch Papier- noch durch Dünnschichtchromatographie ist das Wachs auftrennbar. Beim Erhitzen im Vakuum auf etwa 200° sublimiert lediglich Coffein langsam ab. Eine Destillation ist unter schonenden Bedingungen nicht möglich. Das Wachs läßt sich weder durch Wasserdampf noch durch Schwefelsäure oder Schwefeldioxid entfärben. Ebenso führt die Behandlung der Lösung des Wachses in Chloroform oder Benzol mit Aktivkohle oder Aluminiumoxid nicht zu farblosen Produkten. Man erreicht lediglich eine geringfügige Aufhellung der Farbe. Sowohl durch Kolonnenkristallisieren (48) als auch durch Zonenschmelzen (49) ist eine Trennung in einen farblosen und einen gefärbten Anteil nicht zu erreichen.

Das IR-Spektrum des Wachses zeigt die folgende Abbildung.

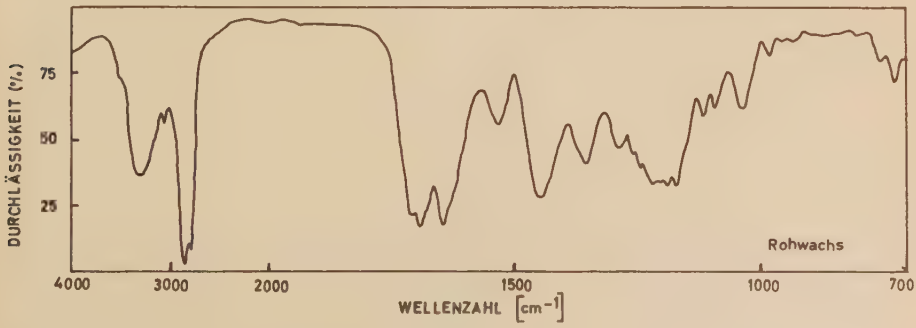
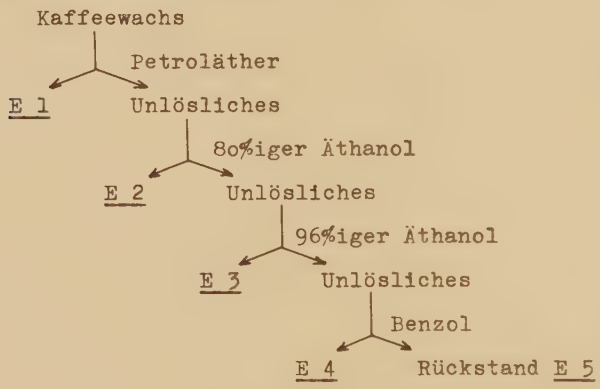


Abb. 1: IR-Spektrum des rohen Kaffeewachses
(Einzelheiten zu den Spektren s.S.)

Besonders ausgeprägt sind in diesem Spektrum die OH-, CH-Valenz-, C=O-, C=C- und Alkohol-OH-Bande. Auf eine genaue Auswertung des Spektrums wurde allerdings verzichtet.

Die Vortrennung des Wachses

Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, das Kaffeewachs nicht als komplexes Gemisch zu untersuchen, sondern dieses Gemisch erst einmal durch Lösungsmittel aufzuteilen:



Auf diese Weise werden also vier Extrakte und ein in keinem gebräuchlichen Lösungsmittel mehr löslicher Rückstand erhalten. Die Extraktion erfolgt immer bei der Siedetemperatur des jeweils verwendeten Solvens und wird solange mit erneuertem Lösungsmittel fortgesetzt, bis sich nichts mehr löst. Das Unlösliche wird vor dem nächsten Extraktionsschritt vollständig vom vorangegangenen Lösungsmittel befreit.

Aus den einzelnen Extrakten wird dann das Lösungsmittel abdestilliert und man erhält

aus E 1 ein dunkelbraunes, zähes, schwach nach Kaffee riechendes Öl,

aus E 2 ein hellbraunes, geruchloses Pulver,

aus E 3 ein dunkelbraunes Pulver mit schwachem Kaffeegeruch und

aus E 4 eine dunkelbraune, wachsartige Masse, die ebenfalls etwas nach Kaffee riecht.

Der Rückstand E 5 ist ein graubraunes Pulver.

Diese vier Extrakte unterscheiden sich nicht nur in den Färbungen bei der Liebermann-Burchard-Reaktion (LBR), sondern auch im Dünnschichtchromatogramm (DC).

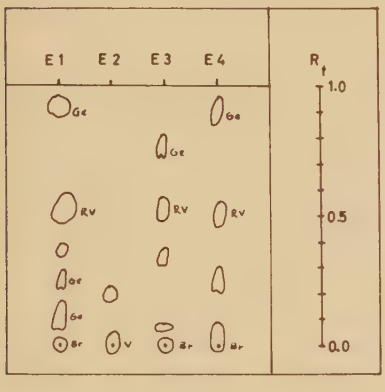


Abb. 2: DC der Rohextrakte
S 1; R 0

Die LBR (R 34) wurde bei fast allen Substanzen ausgeführt. Die Reaktion ist immer positiv, wenn sich unter dem Einfluß der wasserabspaltenden oder isomerisierenden Wirkung der konz. Schwefelsäure ein Dien mit zwei konjugierten Doppelbindungen bilden kann oder wenn bereits ein solches Dien vorliegt. Sie ist ferner positiv bei zwei isolierten Doppelbindungen und einer dazu benachbarten OH- oder OR-Gruppe. Bei aromatischen Systemen und bei gesättigten Verbindungen fällt sie negativ aus. Als positive Reaktion ist bei Sterinen die immer auftretende Grünfärbung zu werten. Bei Resenen ist die Färbung meist Rot und bei einfachen Terpenen gewöhnlich Gelb.

Etwa 5o% des Wachses besteht aus Extrakt E 1. Der Anteil an E 2 beträgt rund 4%, an E 3 25%, an E 4 2o% und an E 5 rund 1%.

Die Aufarbeitung der Extrakte

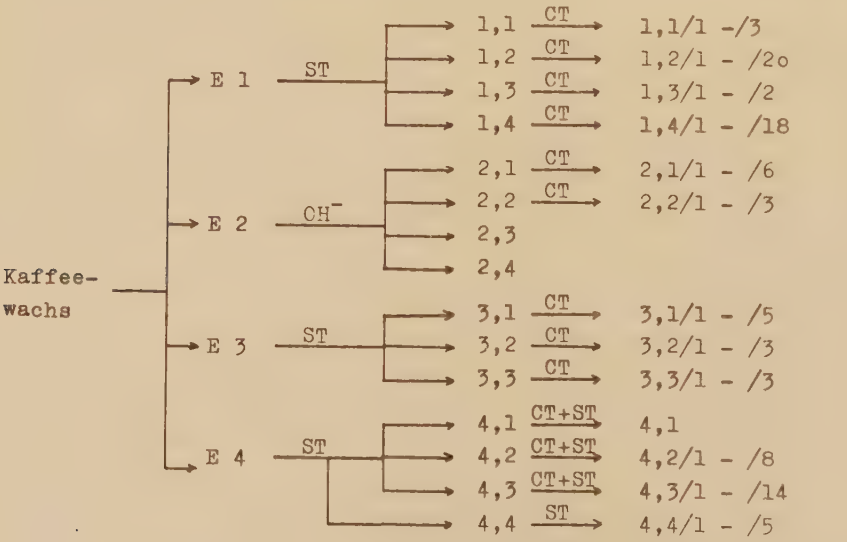
Die Substanz E 1 wird durch Aceton und Methanol in vier Fraktionen - E 1,1 - 1,2 - 1,3 - 1,4 - aufgeteilt. Jede dieser Fraktionen erfährt eine weitere Trennung in einzelne Substanzen durch Chromatographie an Aluminiumoxid-Säulen passender Dimensionierung.

Die Substanz E 2 wird nicht durch Lösungsmittel, sondern durch Verseifung in vier Fraktionen - E 2,1 - 2,2 - 2,3 - 2,4 - zerlegt. Davon können nur die beiden ersten Fraktionen durch Säulenchromatographie weiter in einzelne Substanzen aufgespalten werden. Die Fraktionen E 2,3 und E 2,4 sind dagegen nicht mehr zu trennen.

Mittels Petroläther, Chloroform und Aceton wird die Substanz E 3 in drei Fraktionen - E 3,1 - 3,2 - 3,3 - getrennt. Die weitere Aufteilung in Substanzen erfolgt bei E 3,1 durch Chromatographie an Aluminiumoxid, bei E 3,2 und E 3,3 dagegen an Kieselgel.

Die Substanz E 4 wird durch Aceton in eine lösliche und eine unlösliche Komponente zerlegt. Aus dem Acetonlöslichen werden durch Säulenchromatographie an Aluminiumoxid drei Fraktionen - E 4,1 - 4,2 - 4,3 - erhalten. Die weitere Aufteilung dieser Fraktionen erfolgt dann sowohl durch Chromatographie als auch mittels Solventien. Nur durch Lösungsmittel wird die in Aceton unlösliche Komponente - E 4,4 - in einzelne Substanzen zerlegt.

Jeder Trennungsschritt wird einerseits durch die LBR, andrerseits durch DC verfolgt. Aus dem DC geht dabei gleichzeitig hervor, ob die Substanz einheitlich ist oder einer nochmaligen Trennung unterworfen werden muß. Stark vereinfacht erhält man somit für die Trennung folgendes Schema:



CT = Trennung durch Chromatographie
ST = Trennung durch Solventien

Die Reagenzien und Reaktionen

Die aus den Fraktionen abgetrennten Substanzen werden mit einer Reihe von Reagenzien getestet, die auf bestimmte funktionelle Gruppen eines Moleküls mehr oder weniger spezifisch ansprechen. Mit manchen Reagenzien ist auch der Nachweis von Molekülfragmenten möglich. Eine Zusammenstellung derartiger Reagenzien findet sich in den Büchern über Papier- und Dünnschichtchromatographie (44)(45). Von wenigen Fällen abgesehen, sind in diesen Zusammenstellungen kaum Angaben darüber gemacht, inwieweit die einzelnen Reagenzien spezifische Reaktionen geben. Dagegen können aus Originalarbeiten über Chromatographie und Identifizierung einzelner Stoffklassen Bemerkungen zur Breite des Anwendungsbereiches einiger Nachweisreaktionen entnommen werden. Die meisten der in dieser Arbeit verwendeten Reagenzien sind nach diesen Originalvorschriften hergestellt. Eine weitere Zahl von Nachweisverfahren hat FEIGL (46) zusammengestellt, die sich vor allem durch ihre Spezifität auszeichnen und nach geringfügiger Abwandlung auch in der Chromatographie angewendet werden können.

Die Ausführung der Nachweisreaktionen kann in der Weise erfolgen, daß Lösungen der Substanzen auf Chromatographiepapier aufgetropft und die entstehenden Flecken mit den Reagenzien getüpfelt werden. Deutlichere Reaktionen werden jedoch erzielt, wenn die auf Dünnschichtplatten gelaufenen Substanzen mit den Reagenzien besprüht werden. Nicht alle der dabei auftretenden Reaktionen sind ursächlich bekannt; bei einigen jedoch kennt man das Prinzip, wie aus folgendem kurzen Überblick hervorgeht.

1) Säure-Base-Indikatoren
Mit Hilfe dieser Farbstoffe können Säuren, Basen und amphotere Substanzen nachgewiesen werden. In manchen Fällen wird der Indikatorlösung eine Komponente zugesetzt, die mit der nachzuweisenden Substanz reagiert. Dadurch kann der Nachweis wesentlich empfindlicher gestaltet werden.

2) Adsorption
Die sogen. Kontrastausfärbung der Lipoide und verwandter Substanzen beruht anscheinend auf der unterschiedlichen Adsorption eines lipophilen Farbstoffs an der Substanz und

an dem Substanzträger. Vielfach ist damit eine Änderung der Fluoreszemz des Farbstoffs im UV-Licht verbunden.

3) Oxydation und Reduktion
Eine große Zahl von Nachweisreaktionen beruht darauf, daß die nachzuweisende Substanz entweder oxydiert oder reduziert wird. Dabei kann das Reagenz entweder entfärbt werden oder es entstehen farbige Produkte.

4) Reaktionen mit anorganischen Salzen
Im Gegensatz zu den anorganischen Verbindungen, die für Oxydations- und Reduktionsreaktionen verwendet werden, tritt bei dieser Gruppe von Verbindungen die Bildung von farbigen Salzen oder Komplexen ein. Weiterhin beruhen derartige Nachweise auf Fällungsreaktionen unter Farbänderung und Färbungen infolge Halochromie.

5) Bildung von Azofarbstoffen
Gewöhnlich wird die nachzuweisende Substanz mit einer Diazoniumsalzlösung besprüht, wodurch dann ein Farbstoff entsteht. Daneben gibt es auch die Möglichkeit, ein auf dem Chromatogramm diazotiertes Amin mit einer Kupplungskomponente zu besprühen und auf diese Weise den Farbstoff zu erzeugen.

6) Bildung Schiffscher Basen und Indophenole
Sehr viele Nachweisreaktionen haben ihre Ursache in der Bildung Schiffscher Basen. Dabei kann die Umsetzung zwischen nachzuweisender Substanz und Reagenz sofort erfolgen oder erst nach Entstehung von einem der Reaktionspartner im Verlauf der Reaktion. In manchen Fällen entsteht aus der Schiffschen Base durch Weiterkondensation ein stabiler Heterocyclus. Seltener sind dagegen Nachweise durch Bildung von Indophenolen, die Indikatoreigenschaften besitzen.

7) Bildung von Arylmethanderivaten
Bei diesen Reaktionen nimmt man an, daß in einer Primärreaktion durch Kondensation Diaryl- oder Triarylmethane entstehen, die dann in einer Folgereaktion zu gefärbten chinoiden Systemen oxydiert werden.

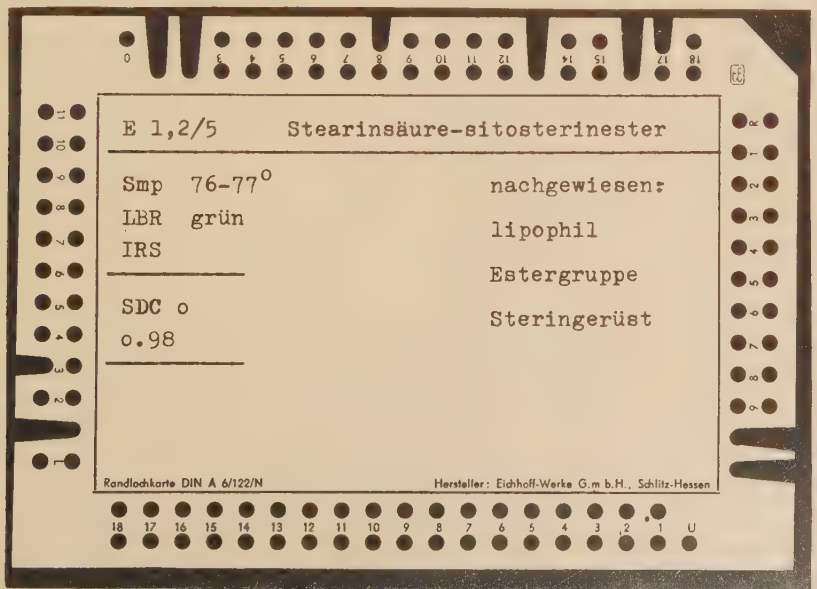
8) Substanzspezifische Reaktionen
Naturgemäß ist die Zahl dieser Reaktionen sehr gering. Etwas häufiger dagegen sind Reaktionen, die spezifisch von bestimmten Funktionen gegeben werden.

Viele der auf bestimmte Funktionen ansprechenden Reagenzien geben solche Reaktionen, die entweder als positiv oder als negativ zu bewerten sind. Aber nicht immer ist eine derartige alternative Auslegung einer Reaktion möglich. In solchen Fällen testet man das Reagenz an Vergleichssubstanzen, um zu eindeutigen Ergebnissen zu gelangen, oder man führt den Nachweis mit einem spezifischeren Reagenz aus.

Die Auswertung der Reaktionen ergibt nun zumindest darüber Aufschluß, welche funktionellen Gruppen in einer Substanz enthalten sind. Die größere Bedeutung der Reaktionen liegt aber in der Möglichkeit, die Substanzen in die entsprechenden Verbindungsklassen einordnen zu können. Aus der Kenntnis der Art der Verbindung und der weiteren funktionellen Gruppen ergeben sich somit Hinweise auf die Struktur der Substanz, die dann durch klassische Methoden und/oder durch IR-Spektroskopie vollständig ermittelt werden kann.

Die Auswertung der Nachweisreaktionen mittels Randlochkarten

Jede der aus den Fraktionen isolierten Substanzen wurde durchschnittlich mit 25 Reagenzien getestet. Die Ergebnisse können entweder in Tabellen oder auf Randlochkarten eingetragen werden. Lochkarten erleichtern eine Auswertung und wahren die Übersicht.



Für jede einzelne Substanz wird eine DIN A 6 -Lochkarte angelegt. Auf ihr werden Schmelz- oder Siedepunkt, Färbung bei der LBR, R_f-Wert im Standard-DC, ob ein IR-Spektrum der betreffenden Substanz gemacht ist und die nachgewiesenen Funktionen eingetragen. Diese Daten werden nach einem bestimmten Schlüssel in die Doppellochreihen entlang der Kartenränder eingekerbt. Mit Hilfe von Nadeln, die in die den Funktionen entsprechenden Kerbungen eingestochen werden, können dann Substanzgruppen und aus diesen wiederum Einzelsubstanzen aussortiert werden.

Durch jedes Lochpaar der Doppellochreihen können zwei Funktionen in der Weise ausgedrückt werden, daß die eine durch Tiefkerbung, die andere durch Hochkerbung verschlüsselt wird. Dabei hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die weniger häufige Funktion tief, die öfter vorkommende dagegen hoch zu kerben, um auch dann noch unterscheiden zu können, wenn die beiden Funktionen in einer Substanz vorkommen können. Nur bei sich ausschließenden Funktionen ist die Art der Kerbung unwesentlich. Dagegen ist die Art der Kerbung beim Abfragen der Karten, also beim Aussortieren bestimmter Substanzen zu beachten. Hierbei gilt die Regel: "tief geht vor hoch". Das bedeutet, daß die durch Hochkerbung eines Lochpaares verschlüsselte Funktion erst dann ausgewertet werden kann, wenn die tief gekerbte Funktion aussortiert ist. Die Daten sind nach folgendem Schlüssel in die Lochpaare gekerbt:

1) Linke Lochreihe
Mit Hilfe dieser Lochreihe ist es möglich, die zu einem Extrakt und zu einer Fraktion gehörenden Substanzen auszusortieren.

1 t = E 1	3 t = E 1,1	1 h = E 2	5 t = E 2,1
	3 h = E 1,2		5 h = E 2,2
	4 t = E 1,3		6 t = E 2,3
	4 h = E 1,4		6 h = E 2,4
2 t = E 3	7 t = E 3,1	2 h = E 4	9 t = E 4,1
	7 h = E 3,2		9 h = E 4,2
	8 t = E 3,3		lo t = E 4,3
			lo h = E 4,4

ll t = B
ll h = E 5

2) Obere Lochreihe

In dieser Lochreihe sind die nachgewiesenen Funktionen, die Farbe bei der LBR, der Aggregatzustand und das IR-Spektrum (IRS) eingekerbt.

1 t	fest	1o t	sekundäre Amine
1 h	flüssig	1o h	primäre Amine
2 t	LBR grün	11 t	Phosphatide
2 h	LBR andersfarbig	11 h	Glykolipide
3 t	Keton	12 t	Aldose
3 h	Aldehyd	12 h	Ketose
4 t	Karbonsäure	13 t	Sterin
4 h	basisch reag. Subst.	13 h	Oxysäure
5 t	unges. Verbindung	14 t	Glycerin
5 h	gesättigte Verb.	14 h	einfacher Alkohol
6 t	α,ß-unges. Karbonylverb.	15 t	Linolensäure
6 h	Enole	15 h	Zellulose
7 t	Phenole	16 t	lipophil
7 h	Resorcin, Phloroglucin	16 h	lipophob
8 t	α,ß-unges. Lacton	17 t	Stickstoff (N_2)
8 h	Ester	17 h	IR-Spektrum
9 t	Schwefelverb. (SH/SS)	18 t	
9 h	Verb. mit quart, N.	18 h	

3) Rechte Lochreihe

Diese Lochreihe umfaßt die R_f-Werte und die Einheitlichkeit bzw. Uneinheitlichkeit im Standard-DC (SDC).

	R_f-Wert		R_f-Wert
1 t	o.oo - o.1o	7 t	o.61 - o.7o
2 t	o.11 - o.2o	8 t	o.71 - o.8o
3 t	o.21 - o.3o	9 t	o.81 - o.9o
4 t	o.31 - o.4o	1o t	o.91 - 1.oo
5 t	o.41 - o.5 o	11 t	SDC einheitlich (SDC o)
6 t	o.51 - o.6o	11 h	SDC uneinheitlich (SDC oo)

Kennzeichnung und Identifizierung der Substanzen

1) Extrakt E 1

1.1) Die Substanzen von Fraktion E 1,1

Die Fraktion E 1,1 besteht aus drei Substanzen, die fest sind und unter 100° schmelzen. Im DC erweisen sie sich als einheitliche Körper mit niederen R_f-Werten.

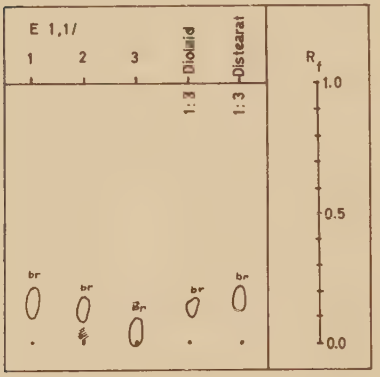


Abb. 3: DC der Substanzen von E 1,1 und Vergleichssubstanzen
S 1; R o

Bemerkenswert an diesen Substanzen ist, daß sie nur eine geringe Zahl charakteristischer Reaktionen geben. Während in E 1,1/1 nur die Esterfunktion und Glycerin nachzuweisen sind, gibt /2 zusätzlich die Reaktionen auf die Doppelbindung. Aus der Bandenprogression des IR-Spektrums von /1 (Abb. 4) ergibt sich die Kettenlänge zu C_{18}, außerdem sind die Banden für die Gruppen ≡COOR (1740 cm^{-1}, 1250 cm^{-1}) und ≡CHOH (1110 cm^{-1}) sowie für Diglyceride (1060, 940, 870 cm^{-1}) ausgeprägt (51) - (54). Im IR-Spektrum von /2 (Abb. 5) findet sich zusätzlich die Bande für nichtkonjugierte cis-Doppelbindungen (1640 cm^{-1}). Somit handelt es sich bei diesen Substanzen um Glyceride, und zwar bei E 1,1/1 um 1:3-Distearin und bei /2 um ein zweisäuriges Diglycerid, wobei eine Säure Ölsäure ist.

In E 1,1/2 sind Spuren von /3 als Verunreinigung enthalten. Die völlige Reaktionslosigkeit von /3 kann nicht auf ein Paraffin zurückgeführt werden, da Paraffine im SDC an der Front laufen und außerdem keine LBR geben. Die Rotfärbung bei der LBR deutet auf ein Resen hin.

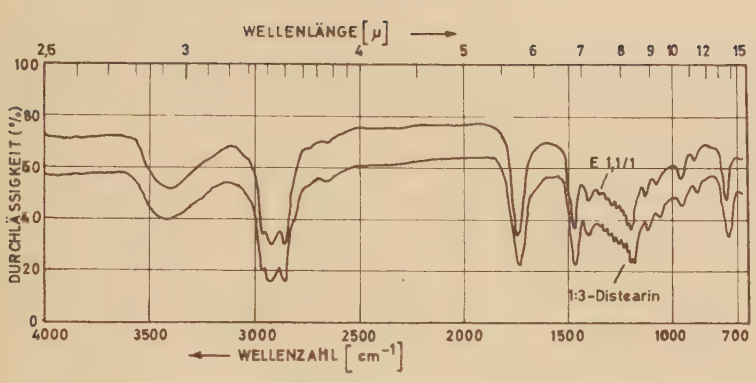


Abb. 4: IRS von E 1,1/1. Zum Vergleich: 1:3-Distearin

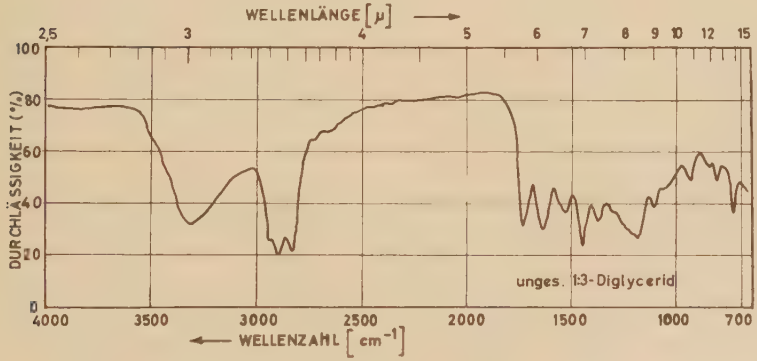


Abb. 5: IRS von E 1,1/2 = Diglycerid (Ölsäure)

1.2) Die Substanzen von Fraktion E 1,2

Die Fraktion E 1,2 besteht aus 2o Substanzen, von denen die eine Hälfte fest, die andere flüssig ist. Die Schmelzpunkte der festen Substanzen liegen mit einer Ausnahme unter 100°. Die flüssigen Substanzen stellen meist gelbe, mehr oder weniger zähe Öle dar, während die Farbe der Feststoffe von farblos bis dunkelbraun variiert. Nach dem DC erweisen sich 18 Substanzen als einheitliche Verbindungen, lediglich zwei bestehen aus vier bzw. fünf Komponen ten, die weder durch Lösungsmittel noch durch Säulenchromatographie weiter aufgetrennt werden können.

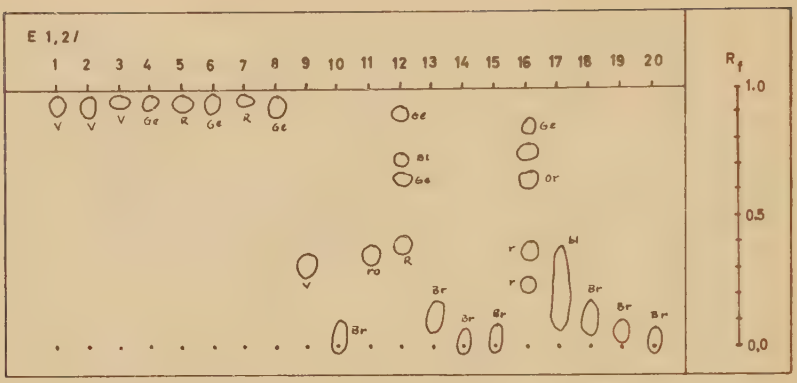


Abb. 6: DC der Substanzen von E 1,2
S 1; R o

Besonders ausgeprägt sind bei den Substanzen dieser Fraktion die Reaktionen auf Lipophilität, Doppelbindung und Esterfunktion. Nur lipophile Eigenschaften besitzen die Substanzen E 1,2/1 und /1o. Diese Reaktionslosigkeit und das IR-Spektrum (Abb. 7) weisen /1 als Paraffin aus. E 1,2/1o ist ein Harz, wie auch die unge sättigte Substanz /2o.

Wesentlich interessanter sind die 15 Substanzen, deren Charakteristikum die Estergruppe ist. Mit Hilfe weiterer Reaktionen ist eine Differenzierung dieser Ester in Glyceride, Glykolipide, Phosphatide und Sterinester möglich. Welche Zucker die Glykolipide enthalten, läßt sich nicht mit Sicherheit bestimmen. Sicher ist nur, daß es sich um Ketosen handelt. Der ungesättigte Charakter der Glykolipide kann ebenso wie der der Glyceride und Phosphatide den Säurekomponenten zugeschrieben werden. Diese Säuren sind offensichtlich Öl-, Linol- und insbesondere Linolensäure, die in einigen Fällen direkt nachgewiesen werden konnte. Sehr auffallend ist die Aldehydfunktion einiger phosphorhaltiger Glyceride. Da die Reaktion mit den entsprechenden Reagenzien nur langsam erfolgt, kann angenommen werden, daß die Aldehydgruppe erst durch Hydrolyse frei wird, und zwar durch Hydrolyse von Acetalphosphatiden. Der Nachweis von Stickstoff, genauer von quarternärem Stickstoff, in einigen Phosphatiden läßt den Schluß zu, daß diese Substanzen Cholinphosphatide darstellen.

Mehrere Substanzen geben bei der LBR eine Grünfärbung, die - wie aus anderen Reaktionen hervorgeht - nicht auf einen

Sterinrest, sondern auf eine bestimmte Konfiguration der Doppelbindungen zurückgeht. Lediglich die Substanzen /5 und /9 sind Sterinester. In beiden Fällen ergibt sich die Länge der Fettsäurekette aus der Bandenprogression im IR-Spektrum (52). Daraus und aus der Verbrennungsanalyse läßt sich E 1,2/5 als Stearinsäure-sitosterinester und E 1,2/9 als Palmitinsäure-sitosterinester identifizieren. Die IR-Spektren von E 1,2/5 und synthetisch dargestelltem Stearinsäure-sitosterinester sind identisch, wie aus Abb. 8 hervorgeht.

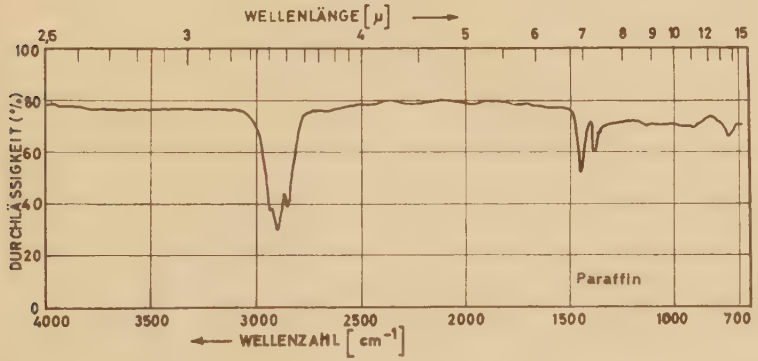


Abb. 7: IRS von E 1,2/1 = Paraffin

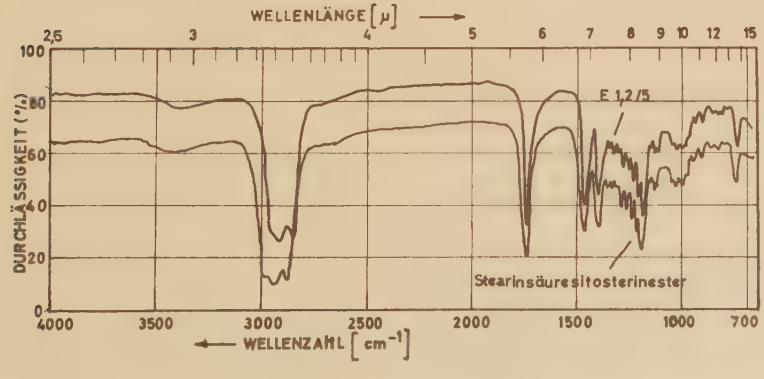


Abb. 8: IRS von E 1,2/5. Als Vergleich: Stearinsäure-sitosterinester

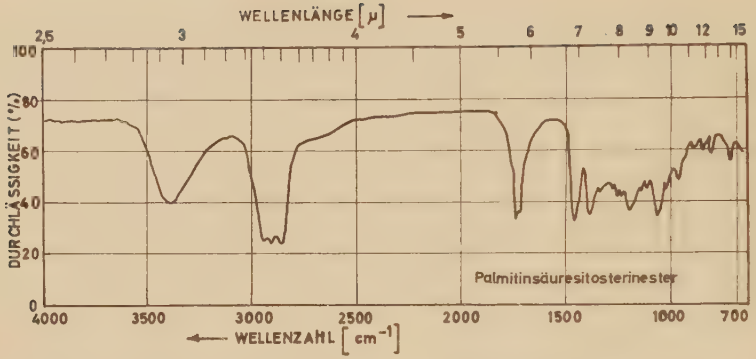


Abb. 9: IRS von E 1,2/9 = Palmitinsäure-sitosterinester

1.3) Die Substanzen von Fraktion E 1,3

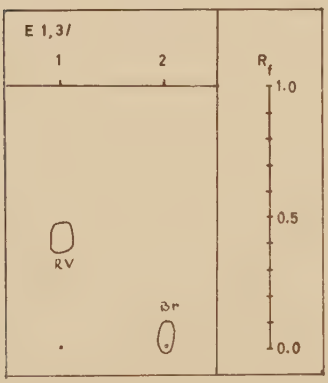


Abb. 1o: DC der Substanzen von E 1,3
S 1; R o

Die Fraktion E 1,3 besteht aus zwei festen Substanzen ohne scharfen Schmelzpunkt.

Während die Substanz /2 mit Ausnahme der Reaktion auf phenolische Hydroxylgruppen keine weiteren Reaktionen zeigt, können in /1 Doppelbindung, Esterfunktion und Glycerin nachgewiesen werden. Diese Substanz kann damit als Glycerid gekennzeichnet werden, in dem eine Säurekomponente ungesättigt ist. Über die Natur von /2 kann dagegen keine sichere Aussage gemacht werden. Aufgrund der Reaktionen könnte es sich um ein Resen handeln.

1.4) Die Substanzen von Fraktion E 1,4

Die Fraktion E 1,4 besteht aus 18 Substanzen, von denen 6 fest und 12 flüssig sind. Die flüssigen Substanzen sind farblose bis dunkelgelbe, mehr oder weniger zähe Öle. Die festen Stoffe sind farblos bis dunkelbraun, und ihre Schmelzpunkte

liegen mit einer Ausnahme unter 100°. Nach dem DC sind alle diese Substanzen einheitliche Verbindungen.

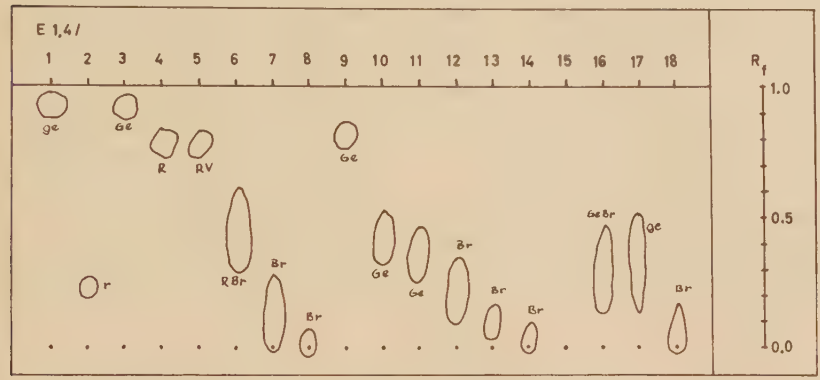


Abb. 11: DC der Substanzen von E 1,4
S 1; R o

In fast allen Substanzen dieser Fraktion läßt sich neben der lipophilen Eigenschaft die Doppelbindung und die Esterfunktion nachweisen. Nur /8 gibt keinerlei Reaktionen. Trotzdem kann diese Substanz nicht als Paraffin gekennzeichnet werden. Die Reaktionen auf Sterine zeigt besonders ausgeprägt die Substanz /2. Dadurch und mit Hilfe von Verbrennungsanalyse und IR-Spektrum (Abb. 12) kann diese Substanz als Sitosterin identifiziert werden.

Die Substanzen mit Esterfunktion sind ausnahmslos ungesättigt. Sie können mittels weiterer Reaktionen in Sterinester und Glyceride eingeteilt werden. Die Sterinester (/1, /3, /4, /5) zeichnen sich durch ein an aloges Verhalten im DC und gegenüber den Sterinreagenzien aus. Die unterschiedlichen Färbungen bei der LBR werden höchstwahrscheinlich durch Konkurrenzreaktion zwischen Sterinrest und Doppelbindungen der Säurekomponenten verursacht. Sie können als Öl-, Linol- und besonders Linolensäureester des Sitosterins gekennzeichnet werden. Als reine Glyceride können nur die Substanzen /11 und /12 bezeichnet werden, wobei /11 besonders durch das IR-Spektrum (Abb. 13) als 1:3-Diolein zu erkennen ist. Auch bei /12 handelt es sich um ein Ölsäureglycerid. Die übrigen Glyceride sind entweder Glykolipide oder zuckerhaltige Phosphatide. Die Glykolipide zeichnen sich dadurch aus, daß sie sowohl Aldose

als auch Ketose enthalten, vermutlich also ein Disaccharid vom Typ der Saccharose. Ebenfalls ein derartiges Disaccharid ist Bestandteil eines der Phosphatide. In diesen Phosphatiden läßt sich kein Stickstoff nachweisen, besondererweise aber Schwefel in Form der SH- und SS-Gruppen. Die Substanzen /15, /16, /17 und /18 geben sich als Karbonsäuren zu erkennen. Außer durch Schmelzpunkt und DC kann /15 vor allem durch Auswertung der Bandenprogression im IR-Spektrum (Abb. 14) als Myristinsäure identifiziert werden. Die drei anderen Säuren sind ungesättigt. Dabei dürfte es sich bei /16 mit größter Wahrscheinlichkeit um Ölsäure handeln. Dagegen ist für die Substanzen /17 und /18 eine Zuordnung nicht mit Sicherheit möglich.

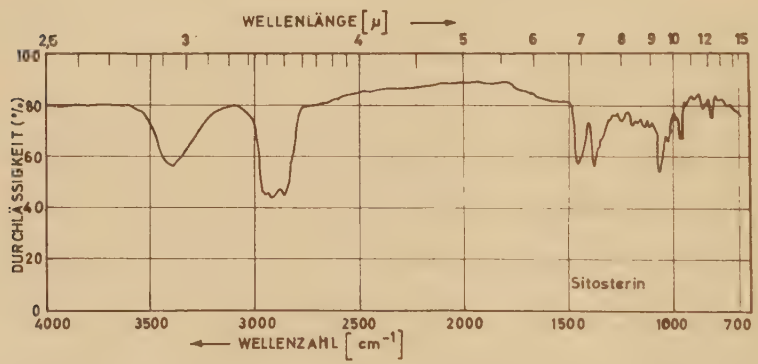


Abb. 12: IRS von E 1,4/2 = Sitosterin

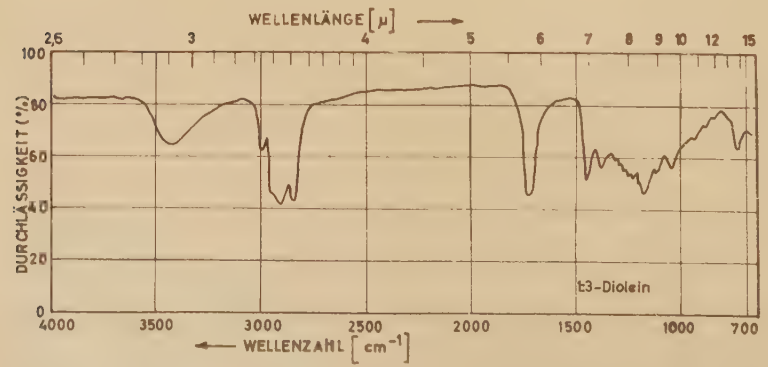


Abb. 13: IRS von E 1,4/11 = 1:3-Diolein

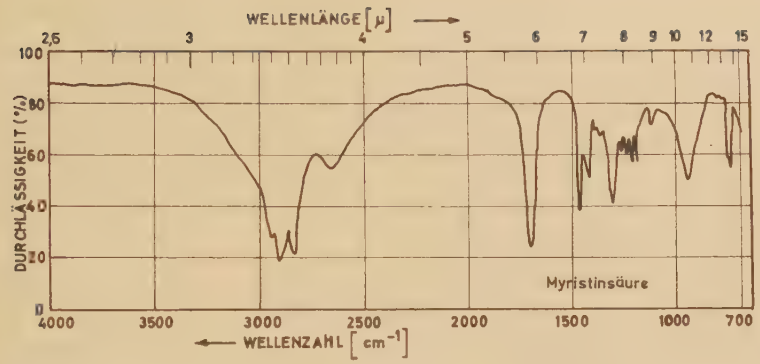


Abb. 14: IRS von E 1,4/15 = Myristinsäure

1.5) Die Substanz B,
bei der alle Reaktionen mit Ausnahme des Tests auf Stickstoff negativ ausfallen, ist Coffein.

2) Extrakt E 2

2.1) Die Substanzen von Fraktion E 2,1

Die Fraktion E 2,1 besteht aus 12 Substanzen, von denen nach dem DC lo einheitliche Verbindungen darstellen. Es konnten jedoch nur vier Substanzen mit den verschiedenen Reagenzien getestet werden, da die Menge der übrigen zu gering war und gerade für ein DC ausreichte. Aufgrund des DC's können diese Substanzen aber als Sitosterin und Phenole gekennzeichnet werden.

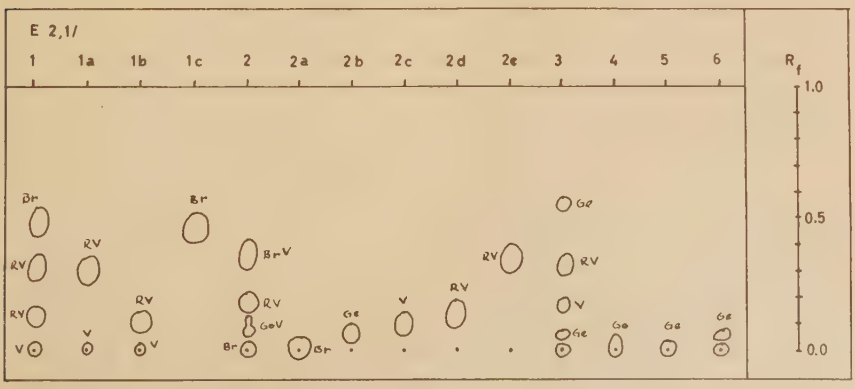


Abb. 15: DC der Substanzen von E 2,1 S 1; R o

Die Schmelzpunkte der vier gelb gefärbten Substanzen liegen mit einer Ausnahme über 100° und sind relativ scharf. Von allen vier Substanzen werden ausgeprägt die Reaktionen auf Phenole und auf die Doppelbindung gegeben. Drei der Substanzen sind reduzierend, so daß ihnen mindestens zwei Hydroxylgruppen zugeschrieben werden können, etwa von der Art des Brenzkatechins oder Hydrochinons.

2.2) Die Substanzen von Fraktion E 2,2

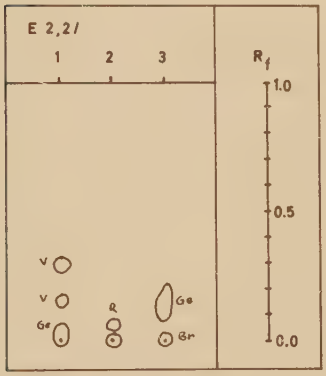


Abb. 16: DC der Substanzen von E 2,2
S 1; R o

Die Fraktion E 2,2 besteht aus drei Substanzen, die nach dem DC nicht einheitlich sind und sich nicht weiter trennen lassen. Sie schmelzen auch nicht scharf, sondern erweichen innerhalb größerer Schmelzbereiche, die mit einer Ausnahme unter 100° liegen.

Auch für diese Substanzen sind charakteristisch das ungesättigte Verhalten und die Reaktionen auf Phenole. Eine der Substanzen reagiert sauer. Das Fehlen weiterer Reaktionen und das Verhalten im DC deuten darauf hin, daß diese Substanzen höher kondensierte Phenole darstellen.

2.3) Die Substanzen der Fraktionen E 2,3 und E 2,4

Diese beiden Fraktionen, dunkelbraune Pulver, können nicht weiter aufgetrennt werden. E 2,3 erweicht zwischen 43° und 60°, E 2,4 wird ab 175° plastisch. Nach dem DC ist E 2,3 uneinheitlich. Aber auch E 2,4 kann nicht mit Sicherheit als einheitlich angesehen werden. Beide Substanzen sind phenolischer Natur und stark ungesättigt. E 2,3 reagiert

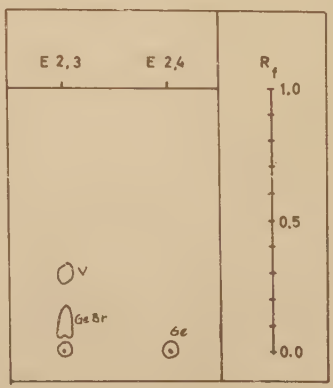


Abb. 17: DC von E 2,3 und E 2,4

zusätzlich sauer.

Auch bei diesen Substanzen scheint es sich um kondensierte Phenole zu handeln.

3) Extrakt E 3

3.1) Die Substanzen von Fraktion E 3,1

Die Fraktion E 3,1 besteht aus fünf Substanzen, die mit einer Ausnahme fest sind. Zwei dieser Substanzen sind farblos und schmelzen scharf, die beiden anderen weisen einen Schmelzbereich auf und sind gelb bzw. rotbraun gefärbt. Nach dem DC erweisen sich aber alle Substanzen als einheitliche Verbindungen.

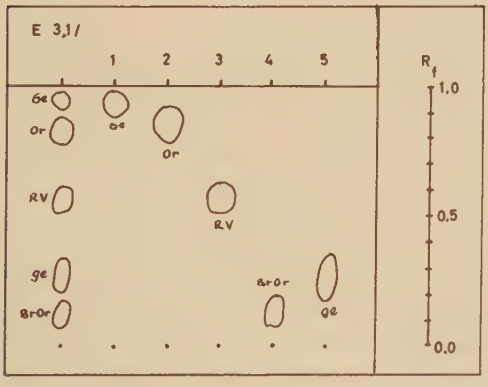


Abb. 18: DC der Substanzen von E 3,1 S 1; R o

Die Substanzen /1, /2 und /3 besitzen als gemeinsames Merkmal die Estergruppe und geben weiterhin die Reaktionen auf Sterine. Damit sind sie als Sitosterinester gekennzeichnet. Die Substanz /3 kann aufgrund ihres mit der Substanz E 1,2/9 identischen Schmelzpunktes und IR-Spektrums als Palmitinsäure-sitosterinester identifiziert werden. Sowohl /1 als auch /2 sind ungesättigte Sitosterinester. Während sich in /1 Linolensäure nachweisen läßt, kann bei /2 die Säurekomponente nicht mit Sicherheit bestimmt werden.

Lediglich die Reaktion auf Säuren gibt die Substanz /5. Durch Verbrennungsanalyse und IR-Spektrum (Abb. 19) kann sie als Stearinsäure identifiziert werden. Die Substanz /4 schließlich ist ein ungesättigtes Phenol, das durch weitere Reaktionen genauer als Flavonoid gekennzeichnet werden kann.

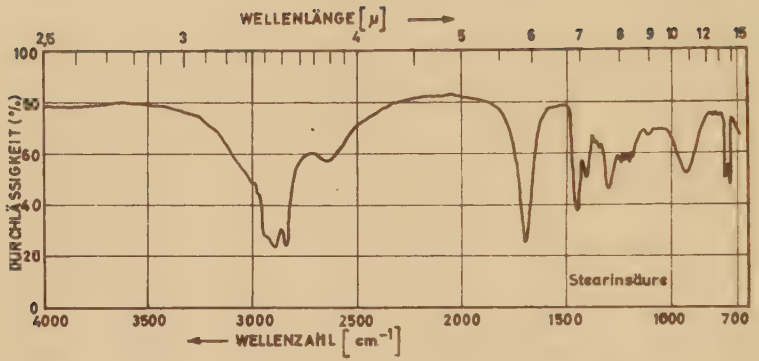


Abb. 19: IRS von E 3,1/5 = Stearinsäure

3.2) Die Substanzen von Fraktion E 3,2

Die Fraktion E 3,2 besteht aus drei gelben bis braunen Substanzen, die mit einer Ausnahme innerhalb eines unter 100° liegenden Schmelzbereiches erweichen. Die daraus zu folgernde Uneinheitlichkeit zeigt sich auch im DC.

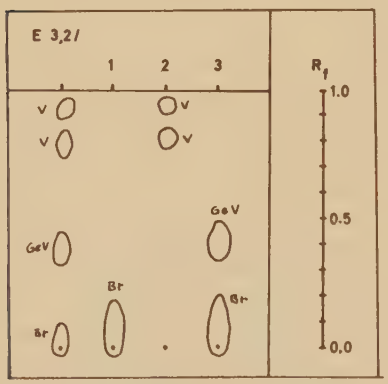


Abb. 2o: DC der Substanzen von E 3,2
$CHCl_3$; R o

Bemerkenswert an der Substanz /1 ist der hohe Erweichungspunkt von 250°. Diese Substanz, die nur die Reaktionen auf phenolische Hydroxylgruppen und die Doppelbindung gibt, muß in die Verbindungsklasse der Harze eingereiht werden. Ebenfalls zu den Harzen ist die Substanz /3 zu rechnen, die die gleichen Reaktionen wie /1 gibt.

Die beiden Komponenten der Substanz /2, die sich nicht voneinander trennen lassen, stellen Ester dar. Weitere Reaktionen geben sie nicht, so daß sie als Wachse angesehen werden können. Vermutlich sind sie Homologe.

3.3) Die Substanzen von Fraktion E 3,3

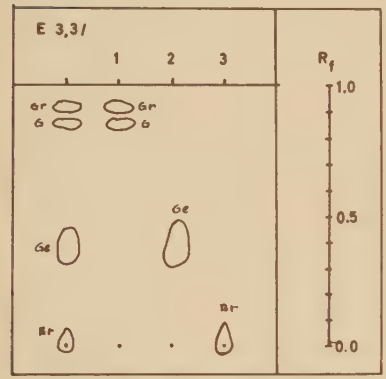


Abb. 21: DC der Substanzen von E 3,3
$CHCl_3$; R o

Die Fraktion E 3,3 besteht wiederum aus drei Substanzen, die gelbbraun gefärbt sind und innerhalb größerer, unter 100° gelegener Schmelzbereiche erweichen. Deshalb kann auch nicht mit Sicherheit von einer Einheitlichkeit aufgrund des DC's gesprochen werden.

Charakteristisch für alle drei Substanzen sind das ungesättigte Verhalten und die Reaktionen auf Phenole. Diese Reaktionen und die Färbungen bei der LBR deuten darauf hin, daß alle drei Substanzen als Resene angesehen werden können, und zwar in veresterter Form. Die Estergruppe läßt sich zwar nur in /1 nachweisen, aber gerade bei derartigen Verbindungen ist die Estergruppe nur äußerst schwer zu bestimmen.

4) Extrakt E 4

4.1) Die Substanzen von Fraktion E 4,1

Die Fraktion E 4,1, ein schwach gelblich gefärbtes Öl, ist selbst eine einheitliche Verbindung. Die Reaktionen auf Doppelbindung und sekundäre Alkoholgruppe werden durch das IR-Spektrum bestätigt und insoweit ergänzt, als die Doppelbindung zu einer weiteren Doppelbindung konjugiert ist. Aus der Verbrennungsanalyse ergibt sich die Summenformel zu $C_{14}H_{25}OH$. Somit ist diese Verbindung ein Tetradecadienol.

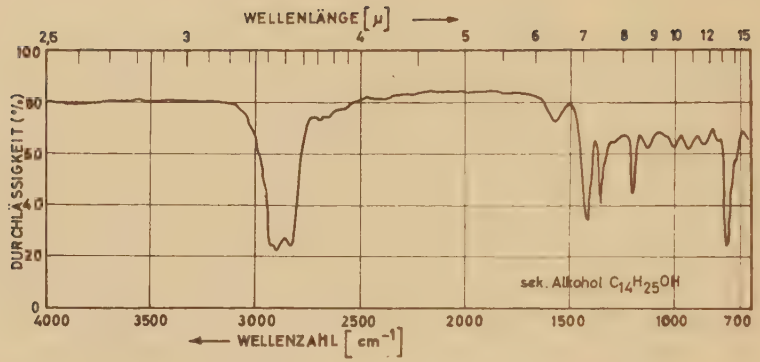


Abb. 22: IRS von E 4,1

4.2) Die Substanzen von Fraktion E 4,2

Die Fraktion E 4,2 besteht aus 8 Substanzen, zwei festen und sechs flüssigen. Die festen Substanzen bilden weiße Kristalle. Die flüssigen Substanzen sind gelbe bis orange Öle von z.T. zäher Konsistenz. Sie fluoreszieren mehr oder weniger stark mit grünlicher Farbe. Der Geruch erinnert an Heu. Das DC weist nur fünf Substanzen als einheitliche Verbindungen aus, zwei enthalten je zwei Komponenten und eine wird nicht erfaßt.

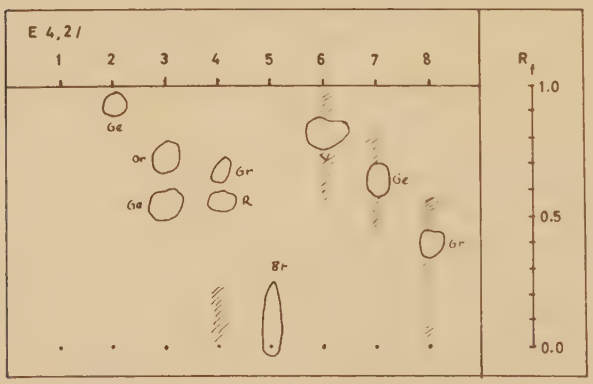


Abb. 23: DC der Substanzen von E 4,2 S 1; R o

Die Substanz /1, die im vorstehenden DC nicht angezeigt wird, ergibt sich aufgrund des Schmelzpunktes von 232°, der Murexidreaktion und vor allem eines Vergleichs-DC's als Coffein zu erkennen. Ebenfalls sehr einfach zu identifizieren ist die Substanz /2, die hinsichtlich Schmelzpunkt, Reaktionen und IR-Spektrum mit E 1,2/5 = Stearinsäure-sitosterinester identisch ist.

Die Öle weisen neben dem lipophilen Verhalten zwei charakteristische Funktionen auf, nämlich die Ketogruppe und die Doppelbindung. Bei einigen ist die ungesättigte Eigenschaft außerordentlich stark ausgeprägt. Die Ketogruppe gehört mit einer Ausnahme α,ß-ungesättigten Ketonen an. Weiterhin lassen sich in diesen Verbindungen mit je einer Ausnahme phenolische Hydroxylgruppen (/5) und quartärer Stickstoff (/6) nachweisen. Einige der Ketone liegen als Ester vor, jedoch nicht in Form von Glyceriden, sondern nach Art der Farbwachse und Farböle. Dafür sprechen auch die Färbungen bei der LBR.

4.3) Die Substanzen von Fraktion E 4,3

Die Fraktion E 4,3 besteht aus 14 Substanzen, von denen 6 fest und 8 flüssig sind. Die flüssigen Substanzen sind gelbe Öle, die festen dagegen bilden weiße Kristalle oder dunkelgelbe Harze. Nach dem DC bestehen vier Substanzen aus mehreren Komponenten und zwei werden nicht erfaßt.

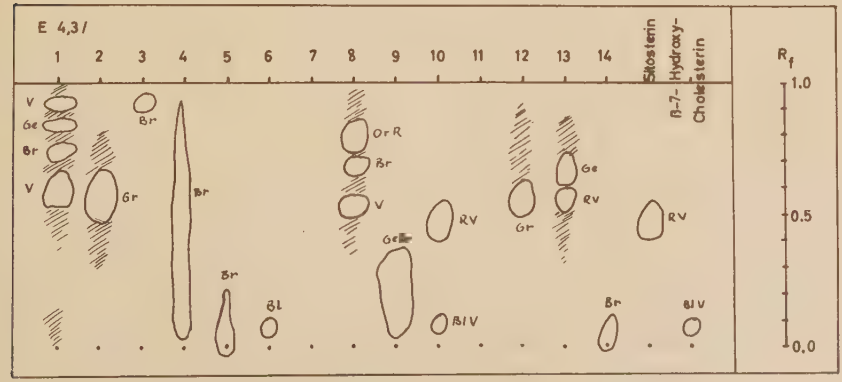


Abb. 24: DC der Substanzen von E 4,3 S 1; R o

Die beiden Substanzen /7 und /11, die im vorstehenden DC nicht nachzuweisen sind, ergeben sich aufgrund von Schmelzpunkt, Murexid-Reaktion und Vergleichs-DC als Coffein zu erkennen. Eine interessante Substanz ist /1o, die nur die Reaktionen auf Sterine gibt. Im DC zeigen sich zwei Flecken. Der Flecken mit höherem R_f-Wert und rotvioletter Farbe geht auf Sitosterin zurück. Der in Startnähe sitzende blaue Flecken kann dagegen einem Oxydationsprodukt des Sitosterins, nämlich dem ß-7-Hydroxysitosterin zugeordnet werden, in Analogie zum ß-7-Hydroxycholesterin. Die harzigen Substanzen /4, /5 und /6 enthalten als gemeinsames Merkmal phenolische Hydroxylgruppen. Dazu kommen bei /4 noch die Doppelbindung, die Esterfunktion und Ketose, so daß für diese Substanz eine gewisse Ähnlichkeit mit einem Tannin angenommen werden kann. Während /5 keine weiteren Reaktionen zeigt, läßt sich in /6 die Doppelbindung nachweisen. Dieses ungesättigte Verhalten, die Färbung bei der LBR, der Nachweis des Furanringes und das Verhalten im DC lassen den Schluß zu, daß es sich bei E 4,3/6 um Cafestol handelt, wenn auch nicht in reinster Form.

Kennzeichnend für die Öle, sowohl der Einzelverbindungen als auch der Substanzen der Gemische (/1, /8, /13), ist das ungesättigte Verhalten, das z.T. außerordentlich stark hervortritt.

Mit Ausnahme der Substanz /3, die nur ungesättigt ist, besitzen die Einzelverbindungen als Gruppenmerkmal die Esterfunktion. Da sich kein Glycerin nachweisen läßt, sind diese Ester keine Glyceride. Nach den Färbungen der LBR scheint es sich um Terpen-Fettsäureester zu handeln. Die Verbindungen /2, /9 und /12 enthalten Zucker, und zwar Ketose. Dazu kommt bei /12 noch Aldose, so daß also ein Disaccharid angenommen werden kann. In /2 und /9 lassen sich weiterhin die Ketogruppe und quartärer Stickstoff nachweisen. Dabei kann die CO-Gruppe in /9 einem α,ß-ungesättigten Keton zugeordnet werden, während der Nachweis in /2 auf die Ketose zurückzuführen sein dürfte.

Sehr zahlreich sind auch die Reaktionen, die von den im DC unterschiedenen Substanzen der Gemische gegeben werden. Ihnen allen gemeinsam sind die Ketofunktion α,ß-ungesättigter Ketone, die Estergruppe, quartärer Stickstoff und Zucker. Die Zucker lassen sich bei zwei Substanzen von /1 und /8 als

Ketose, bei /13 als Aldose kenntlich machen. Außer den genannten Funktionen können in zwei Substanzen von /1 die Enolgruppe und in einer besondererweise die Disulfidgruppe nachgewiesen werden. Das Gemisch /1 gibt eine positive Reaktion auf Glycerin, ohne daß allerdings eine Entscheidung möglich ist, welche der Substanzen als Glycerid anzusehen ist.

4.4) Die Substanzen von Fraktion E 4,4

Die Fraktion E 4,4 besteht aus fünf Substanzen. Davon sind vier weiße bis gelbe Kristallpulver mit Schmelzpunkten unter 100°, während eine ein schwarzes Pulver darstellt, das in keinem Lösungsmittel mehr löslich ist und auch nicht schmilzt. Nach dem DC sind die vier kristallinen Substanzen einheitliche Verbindungen.

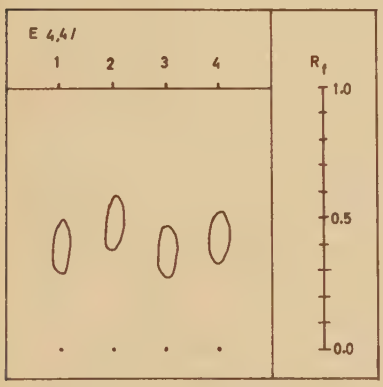


Abb. 25: DC der Substanzen von E 4,4
S 1; R 7 bzw. R 8

Alle vier Substanzen sind lipophil und geben nur die Reaktion auf Säuren. Eine Identifizierung mit Hilfe von Vergleichs-DC und IR-Spektren ist nicht möglich, denn einerseits sind im DC, auch mit anderen Systemen als S 1, die R_f-Werte nicht genügend verschieden, und andererseits kann aus der Bandenprogression der IR-Spektren nicht immer mit absoluter Sicherheit auf die Kettenlänge von Fettsäuren geschlossen werden. Der Schmelzpunkt der Fettsäuren wird allgemein schon durch geringfügige Verunreinigungen stark herabgedrückt. Durch Anwendung des MZS-Verfahrens auf die vorher schon mehrfach umkristallisierten Säuren ist es jedoch in eleganter Weise möglich, diese Verunreinigungen zu eliminieren und dadurch einen konstanten Schmelzpunkt zu erreichen. Aus den so erhaltenen Schmelzpunkten und aus den Verbrennungsanalysen lassen sich die Substanzen identifizieren als Behensäure (/1), Montansäure (/2), Lignocerinsäure (/3) und Arachinsäure (/4). Eine Bestätigung der Arachinsäure ergibt sich zusätzlich durch

Auswertung der Bandenprogression im IR-Spektrum (Abb. 26).

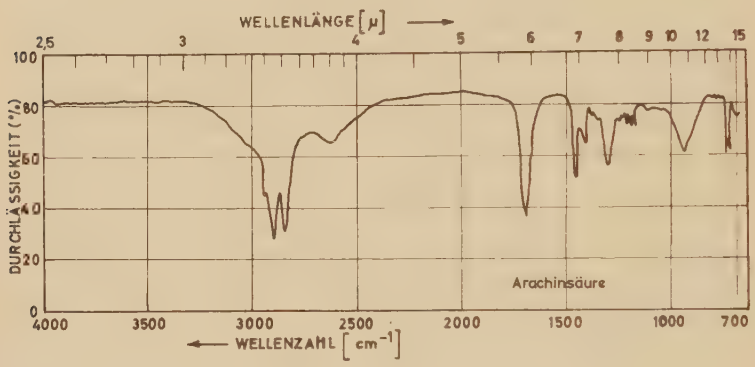


Abb. 26: IRS von E 4,4/4 = Arachinsäure

Im Gegensatz dazu kann die Substanz E 4,4/5 nicht identifiziert, sondern nur als Phlobaphen gekennzeichnet werden, das durch saure Kondensation aus Phlobatanninen entstanden sein dürfte (55). Die Verbrennungsanalyse ergibt die allgemeine Formel $(C_{21-22}H_{33-34}O_4N)_n$, wobei n wegen der Unlöslichkeit der Subst anz nicht bestimmt werden kann. Der Gehalt an Stickstoff ist auf eine Verunreinigung zurückzuführen, da Phlobaphene normalerweise stickstofffrei sind.

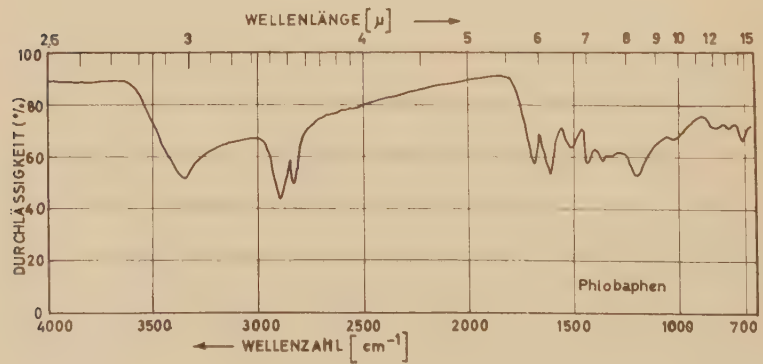


Abb. 27: IRS von E 4,4/5

Dieses Phlobaphen enthält Arachinsäure eingeschlossen, die durch Oxydation der Substanz mit Salpetersäure frei wird und hinsichtlich Reaktionen, Schmelzpunkt und IR-Spektrum mit E 4,4/4 übereinstimmt. Weiterhin entsteht als Oxydationsprodukt eine orangerote, lackartige Substanz, die sich nur in Aceton und Natronlauge vollständig löst und in der teils phenolische, teils alkoholische Hydroxylgruppen, die COOH-Gruppe, Doppelbindung und Stickstoff nachgewiesen werden können. Der Stickstoff liegt tertiär gebunden vor, wahrscheinlich in einem Ring, da nach Methylierung quartärer Stickstoff nachzuweisen ist.

5) Rückstand E 5

Diese stickstoffhaltige Substanz besteht in der Hauptsache aus Pflanzenteilen wie Samenhäutchen und Zellulosefasern.

Anhang

Eine Reihe von Substanzen läuft im Standard-DC entweder überhaupt nicht oder nur ganz geringfügig. Verwendet man jedoch ein polareres System, dann können auch diese Substanzen zur Wanderung gebracht werden.

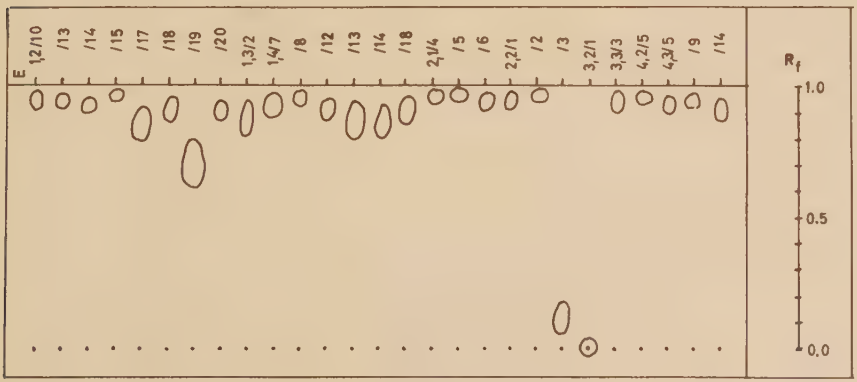


Abb. 28: DC der im Standard-DC am Start bleibenden Substanzen
S 4; R o

Die durch Schmelzpunkt und Murexidreaktion als Coffein erkannten Substanzen sind frei von anderen Purinen, wie aus folgendem DC hervorgeht, durch das auch eine sichere Identifizierung möglich ist.

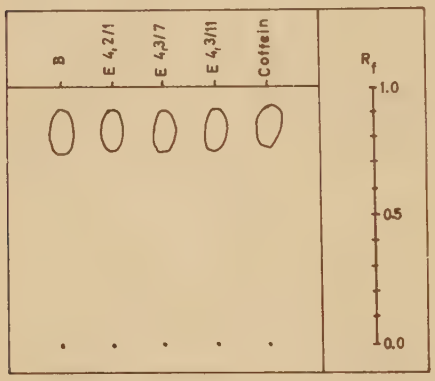


Abb. 29: DC von Coffein
S 2

Nachweis: Das DC wird zuerst mit alkoholischer Jod-Jodkali-Lösung und dann mit einem Gemisch aus 1 Teil Methanol und 1 Teil 25%iger Salzsäure besprüht.
Coffein und Theophyllin geben eine rötliche, Theobromin eine graue Färbung.

Ein vergleichendes Dünnschichtchromatogramm der aus dem Wachs isolierten Fettsäuren zeigt die folgende Abbildung.

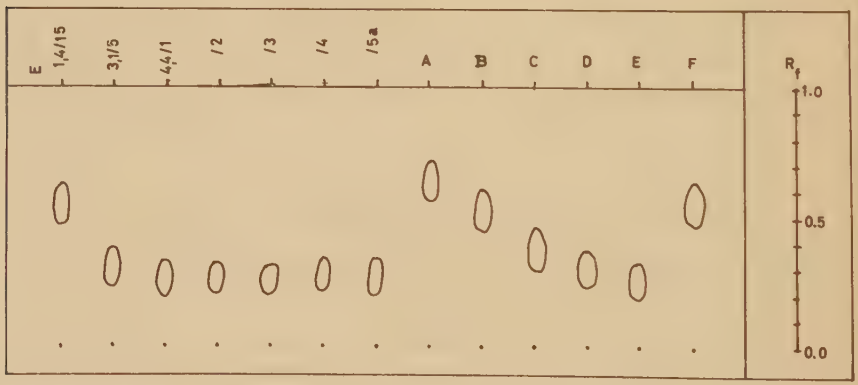


Abb. 30; S 3; R 7
Vergleichssubstanzen: A = Laurinsäure D = Stearinsäure
B = Myristinsäure E = Lignocerinsäure
C = Palmitinsäure F = Ölsäure

E X P E R I M E N T E L L E S

Auftrennung des Wachses mittels Lösungsmittel

Das Wachs wird zerkleinert und im Soxhlet mit Petroläther extrahiert. Aus dem dunkelbraunen Extrakt wird der Petroläther abdestilliert, und es bleibt ein dunkelbraunes, zähes Öl zurück, das schwach nach Kaffee riecht. E 1

Das in Petroläther Unlösliche wird mehrmals mit 80%igem Äthanol ausgekocht. Die Extrakte werden zusammengegeben und abdestilliert. Es bleibt ein hellbraunes, geruchloses Pulver zurück. E 2

Das in 80%igem Äthanol Unlösliche wird mehrmals mit 96%igem Äthanol ausgekocht. Die dunkelbraunen Extrakte werden zusammen abdestilliert. Es bleibt ein dunkelbraunes Pulver zurück, das schwach nach Kaffee riecht. E 3

Das in 96%igem Äthanol Unlösliche wird mehrmals mit Benzol ausgekocht. Die dunkelbraunen Extrakte werden zusammen abdestilliert. Es bleibt ein dunkelbraunes Öl zurück, das schwach nach Kaffee riecht und zu einer wachsartigen Masse erstarrt. E 4

Das in Benzol Unlösliche ist ein schwarzbraunes Pulver. E 5

LBR's

E 1: tief dunkelrot -- violettrot -- violett

E 2: hellrot -- hellbraun

E 3: dunkelrot -- rotbraun

E 4: tief dunkelrot -- violett

E 5: rotviolett -- rotbraun -- braun

Diese Rohfraktionen werden nun einzeln aufgearbeitet.

I) Aufarbeitung von E 1

Die Substanz wird in Petroläther gelöst und mit 50%igem Methanol solange ausgeschüttelt, bis die methanolische Phase klar und farblos ist. Sie wird abgelassen und eingedampft. Es bleibt ein gelblichweißes Pulver zurück (B).

Die Petrolätherlösung (A) wird getrocknet und abdestilliert. Der dunkelbraune Rückstand wird in Aceton eingerührt. Es fällt ein Niederschlag aus, der nach einigem Stehen abgesaugt wird. Graubraunes Pulver. E 1,1

Das Filtrat von E 1,1 wird eingedampft. Das zurückbleibende dunkelbraune Öl wird in Methanol eingerührt. Es entsteht eine trübe Lösung, aus der sich nach einigem Stehen ein dunkelbraunes Öl absetzt. E 1,2

Von diesem Öl wird abdekantiert und die klare Lösung etwas eingedampft. Beim Abkühlen in Eis fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Gelbliches Pulver. E 1,3

Das Filtrat von E 1,3 wird eingedampft. Es bleibt ein dunkelbraunes Wachs zurück. E 1,4

LBR's

E 1,1: violett -- bräunlich -- braun
E 1,2: dunkelrot -- rotbraun -- braun
E 1,3: rot -- hellbraun -- braun
E 1,4: orangerot -- rotbraun

Aufarbeitung von B

Das Pulver wird mit einer Mischung aus Chloroform und Aceton mehrmals ausgekocht. Bis auf einen kleinen Rest geht alles in Lösung. Nach dem Abfiltrieren scheidet diese Lösung beim Abkühlen weiße Nadeln aus. Diese werden abgesaugt und aus Aceton unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Weißes Pulver. Keine LBR. Smp 232°. B

1) Trennung von E 1,1

Die Substanz wird mehrmals mit Methanol ausgekocht. Die klaren gelben Lösungen werden zusammen eingeengt und abgekühlt. Es fällt ein flockiger Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Gelblichweißes Pulver. Dieses Pulver wird in Chloroform gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Zur Entwicklung wird mit $CHCl_3$ eluiert. Sobald sich das Chromatogramm ausgebildet hat, wird mit CH_3OH : $CHCl_3$ = 2.5 : loo eluiert. Es wandert eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbliches Wachs zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Methanol erhält man ein ockerweißes Pulver. Keine LBR. Durch Umkristallisieren aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle wird die Substanz rein weiß. Smp 68.5°. E 1,1/1

Nach Auslauf dieser Zone wird mit CH_3OH : $CHCl_3$ = 5 : loo eluiert. Es läuft eine gelbliche Lösung aus, die beim Eindampfen ein bräunliches Wachs zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle erhält man ein ockerfarbenes Pulver. LBR: hellrot -- bräunlich. Smp 74° (Lack). E 1,1/2

Zum Schluß wird die Säule mit CH_3OH : $CHCl_3$ = 1 : 1 eluiert. Es wandert eine breite bräunliche Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braunes Harz zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Methanol erhält man ein bräunliches Pulver. LBR: violettrot -- bräunlich. Smp 65/74°. E 1,1/3

2) Trennung von E 1,2

Die Lösung der Substanz in Petroläther wird auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Zuerst wird mit Petroläther und dann mit Petroläther/Benzol- und Petroläther/Tetra-Gemischen eluiert. Die gesamten farblosen Eluate werden eingedampft. Es bleibt ein farbloses, dünnflüssiges Öl zurück. (a).

Danach wird mit $CHCl_3$ eluiert. Das gelbliche Eluat, das mehrere Zonen enthält wird eingedampft. Es bleibt ein gelbes Fett zurück, das grünlich fluoresziert. (b).

Wenn das Chloroform substanzfrei kommt, wird mit Methanol eluiert. Die gelbe Lösung, die mehrere Zonen enthält, wird eingedampft. Der Rückstand wird mit Chloroform aufgenommen, mit Wasser ausgeschüttelt, getrocknet und eingedampft. Es

bleibt ein grünlichbraunes, aromatisch riechendes Öl zurück.(c).

Zum Schluß wird die Säule mit Aceton/Hac und Aceton/HCl ausgewaschen. Das Eluat wird mit Chloroform versetzt und bis zur neutralen Reaktion mit Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen wird die Chloroformlösung eingedampft. Es bleibt ein dunkelbraunes Fett zurück. (d).

LBR's

(a) keine
(b) violett -- blau -- grün
(c) tiefrot -- dunkelbraun
(d) rotbraun -- braun

(a) Das farblose Öl wird destilliert. Sdp 2oo - 21o°. LBR: dunkelgelb. E 1,2/1

(b) Die Substanz wird in Petroläther gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Mit Petroläther als Elutionsmittel erhält man eine farblose Lösung, die beim Eindampfen ein farbloses Fett zurückläßt. Dieses Fett wird in Aceton gelöst und bis zur Trübung mit Methanol versetzt. Durch Einstellen in Eis erhält man weiße Flocken, die abgesaugt werden. LBR: violett -- blau -- grün. E 1,2/2

Das Filtrat von E 1,2/2 wird eingedampft. Es bleibt ein gelbliches Öl zurück. LBR: violett -- blau -- grün. E 1,2/3

Sobald der Petroläther substanzfrei kommt, wird mit PÄ/$CHCl_3$ = 1 : 1 eluiert. Es wandert eine gelbliche Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes, fluoreszierendes Öl zurückläßt. LBR: grünbraun -- grün -- gelbbraun. E 1,2/4

Zum Schluß wird die Säule mit Methanol eluiert. Es wandert eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelblichweißes Pulver zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Methanol erhält man ein weißes, kristallines Pulver. LBR: violett -- blau -- grün. Smp 76-77°. E 1,2/5

Das Filtrat von E 1,2/5 wird eingedampft. Es bleibt ein gelbes Öl zurück. LBR: violett -- blau -- grün. E 1,2/6

(c) Die Substanz wird in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Nachdem die Lösung eingesickert ist, wird mit PÄ/$CHCl_3$ = 1 : 1 eluiert.

Zuerst kommt eine farblose Lösung, die beim Eindampfen eine

geringe Menge eines gelben, zähen Öls zurückläßt. LBR: tief dunkelrot -- blau -- grün. E 1,2/7

Danach schließt sich eine gelbe Zone an, deren Lösung beim Eindampfen ein oranges Öl zurückläßt. Dieses Öl wird solange mit Methanol ausgekocht, bis der Methanol farblos bleibt. Der Rückstand ist eine orange Schmiere (c 1). Die Extrakte werden zusammen auf die Hälfte eingedampft und in Eis gestellt. Es fällt ein weißer Niederschlag aus, der abgesaugt wird (c2). Das gelbe Filtrat wird aufgehoben (c3).

Anschließend kommt wieder eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine dunkelgelbe, halbfeste Masse zurückläßt. Diese Substanz wird solange mit Methanol ausgekocht, bis der Methanol farblos bleibt. Der Rückstand ist ein gelbbraunes, zähes Öl (c4). Die Extrakte werden zusammen auf die Hälfte eingedampft und in Eis gestellt. Es fällt ein weißer Niederschlag aus, der abgesaugt wird (c5). Das Filtrat wird aufgehoben (c6).

Zum Schluß wird die Säule mit Methanol ausgewaschen. Es wandert eine dunkelgelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine braune Substanz zurückläßt. Diese Substanz wird mehrmals mit Methanol ausgekocht, bis der Methanol farblos bleibt. Der Rückstand ist ein braunes, zähes Harz (c7). Die Extrakte werden zusammen auf die Hälfte eingedampft und in Eis gestellt. Es fällt ein weißer Niederschlag aus, der abgesaugt wird (c8). Das Filtrat wird aufgehoben (c9).

c1 und c4 werden zusammengegeben und mit $CHCl_3/C_6H_6$ = 4 : 1 an Kieselgel chromatographiert. Es kommt eine gelbe Lösung, die beim Eindampfen ein dunkelgelbes Öl zurückläßt. LBR: rot -- schmutzig -- dunkelgrün. E 1,2/8

c2 und c5 werden zusammen aus Methanol umkristallisiert. Weiße Kristalle. Smp 89-90°. LBR: violett -- blau -- grün. E 1,2/9

c7 läßt sich nicht weiter auftrennen. LBR: dunkelrot -- rotbraun. Smp 54/66°. E 1,2/10

c8 wird aus Methanol umkristallisiert. Gelbliches Pulver. Smp 63.4°. LBR: gelblich. E 1,2/11

Die Filtrate c3, c6 und c9 werden zusammengegeben und eingedampft. Es bleibt ein oranges, zähes H arz zurück. Dieses

Harz wird in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, basisch, gegeben. Beim Eluieren mit PÄ kommt zuerst eine farblose Lösung, die substanzfrei ist. Darauf folgt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt, das nicht weiter aufgetrennt werden kann. LBR: dunkelrot — braun — grün. E 1,2/12

Danach wird mit Benzol eluiert. Es wandert eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes Wachs zurückläßt. Diese Substanz wird aus Methanol umkristallisiert. Weißes Pulver. LBR: violett -- blau -- grün; wird zu E 1,2/9 geg eben. Das Filtrat wird eingedampft. Das zurückbleibende, gelbe Öl wird zu E 1,2/12 gegeben.

Darauf wird mit Chloroform eluiert. Es wandert eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt, das nochmals mit $CHCl_3$ an Kieselgel chromatographiert wird. Geringe Menge eines gelben Öls. LBR: orangerot — rotbraun. E 1,2/13

Zum Schluß wird die Säule mit Methanol eluiert. Es wandert eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes Öl zurückläßt, das mit $CHCl_3$ an Kieselgel nochmal chromatographiert wird. Nach dem Vorlauf, der verworfen wird, kommt mit Methanol eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt. LBR: orangerot -- rotbraun. E 1,2/14

(d) Die Substanz wird in PÄ gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Es wird mit PÄ/C_6H_6 = 9:1 - 1:1 eluiert. Es läuft ei ne braungelbe Lösung aus, die beim Eindampfen ein dunkelbraunes Harz zurückläßt. Smp ab 250° plastisch. LBR: rotbraun -- braun. E 1,2/15

Dann wird mit $CHCl_3$ eluiert. Zuerst kommt eine gelbliche Lösung, dann eine braune Zone. Die gelbliche Lösung hinterläßt beim Eindampfen ein gelbes Fett. Diese Substanz wird mit Methanol ausgekocht. Die einzelnen Dekantate werden zusammen eingedampft. Es bleibt ein gelbes Fett zurück, das nicht weiter aufgetrennt werden kann. LBR: rötlichbraun -- olivbraun. E 1,2/16 Die Lösung der braunen Zone hinterläßt beim Eindampfen ein gelbbraunes Wachs. Diese Substanz wird mit Methanol ausgekocht. Die Filtrate werden zusammen mit Aktivkohle aufgekocht und nach dem Filtrieren einge-

dampft. Es bleibt ein gelbes Fett zurück. LBR: orange -- braun. E 1,2/17 Der Rückstand ist ein dunkelbraunes Fett. LBR: braun. Smp 27°. E 1,2/18

Zu m Schluß wird die Säule mit Methanol eluiert. Es wandert eine gelbbraune Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine braune Schmiere zurückläßt. Diese Substanz wird mit Methanol ausgekocht. Die Filtrate werden mit Aktivkohle entfärbt und eingedampft. Es bleibt ein gelbes Öl zurück. LBR: orangerot. E 1,2/19 Der Rückstand ist ein dunkelbraunes, zähes Harz. LBR: rotbraun -- braun. E 1,2/2o

3) Trennung von E 1,3

Die Lösung der Substanz in $CHCl_3$ wird auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Zuerst wird mit Chloroform gründlich ausgewaschen, bis die Lösung farblos kommt und substanzfrei ist. Dann wird mit $CHCl_3/CH_3OH$ = 95:5 eluiert. Es wandert eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbbraunes Wachs zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Methanol wird ein bräunliches, wachsiges Pulver erhalten. Smp 55-6o°. LBR: hellrot -- hellbraun. E 1,3/1

Danach wird mit $CHCl_3/CH_3OH$ = 1:1 eluiert. Es wandert eine bräunliche Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braunes Wachs zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Methanol erhält man ein bräunliches Pulver. Smp 65/75°. LBR: violettrot -- bräunlich. E 1,3/2

4) Trennung von E 1,4

Die Substanz wird in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Nach dem Einsickern wird mit PÄ eluiert.

Zuerst kommt eine farblose Lösung, die beim Eindampfen ein farbloses Öl zurückläßt (a). Nach Wechsel der Vorlage wird mit $CHCl_3$ eluiert. Es wandert eine breite, gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes Öl zurückläßt, das aromatisch riecht und in dem Kristalle schwimmen (b). Danach wird mit $CHCl_3/CH_3OH$ = 1:1 eluiert. Es wandert eine breite, braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braunes, zähes Öl zurückläßt, das in warmem Zustand nach Amin riecht (c). Zum Schluß wird mit Aceton/Hac = 1:1 ausgewaschen. Es wandert

eine breite, braune Zone, deren Lösung mit Chloroform versetzt und mit Wasser ausgeschüttelt wird. Die abgelassene und getrocknete $CHCl_3$-Lösung wird eingedampft. Es bleibt ein braunes Wachs zurück (d).

(a) Dieses farblose Öl wird nicht mehr weiter aufgearbeitet. LBR: braun -- olivgrün. E 1,4/1

(b) Die Substanz wird in Aceton gelöst und bis zur gerade auftretenden Trübung mit Methanol versetzt. Beim Abkühlen in Eis fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt und aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert wird. Weiße, glänzende Kristalle. Smp 139-140°. LBR: violett -- blau -- grün. E 1,4/2

Das Filtrat von E 1,4/2 wird eingedampft. Es bleibt ein gelbes Öl zurück. Dieses wird in Chloroform gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Zuerst kommt eine gelbe Lösung, die beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt (b1). Darauf folgt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein orangegelbes Öl zurückläßt (b2). Dann wird mit Aceton eluiert. Es kommt eine braungelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braunes Öl zurückläßt (b3).

Die Substanz b1 wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Zuerst kommt eine schwach gelbe Lösung, die beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt. LBR: violett -- braun -- grün. E 1,4/3 Danach kommt eine dunkelgelbe Lösung, die beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt. LBR: tiefrot -- rotbraun. E 1,4/4

Die Substanz b2 wird in Chloroform gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Zuerst kommt eine schwach gelbe Lösung, die beim Eindampfen eine geringe Menge eines gelben Öls zurückläßt. LBR: orangerot -- braun. E 1,4/5 Darauf folgt eine dunkelgelbe Lösung, die beim Eindampfen ein dunkelgelbes Öl zurückläßt. LBR: tief dunkelrot -- braun. E 1,4/6

Die Substanz b3 wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Dann wird mit $CHCl_3$/Aceton = 10:1 eluiert. Es läuft eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braunes, zähes Öl zurückläßt. LBR: tief dunkelrot -- braun. E 1,4/7 Dann wird mit Aceton eluiert. Es läuft eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braunes Öl zurückläßt. LBR: orangerot -- braun. E 1,4/8

(c) Die Substanz wird in wenig Chloroform gelöst und die Lösung in etwa die 2ofache Menge PÄ eingerührt. Nach einigem Stehen wird von dem flockigen Niederschlag abgesaugt. Das PÄ-Filtrat wird abdestilliert. Es bleibt ein dunkelbraunes, aromatisch riechendes Öl zurück, in dem Kristalle schwimmen (c1). Der Niederschlag stellt ein dunkelbraunes Wachs dar (c2).

Die Substanz c1 wird in Chloroform gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Zuerst kommt eine gelbe Lösung, die beim Eindampfen ein oranges, klares Öl zurückläßt. Dieses Öl wird auf eine DC-Platte aufgetragen und mit $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1 entwickelt. Unterhalb der Front ist eine gelbe Zone, die abgekratzt und extrahiert wird. Man erhält eine geringe Menge eines gelben Öls. LBR: orangerot -- bräunlich. E 1,4/9 Oberhalb des Starts ist eine im UV-Licht fluoreszierende Zone, die abgekratzt und extrahiert wird. Geringe Menge eines farblosen Öls. LBR: rotorange -- braun. E 1,4/1o

Nach der gelben Lösung kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes, trübes Fett zurückläßt. Dieses Fett wird mit $CHCl_3$ nochmals an einer Kiesgelsäule chromatographiert. Zuerst kommt eine schwach gelbe Lösung, die mit Aktivkohle entfärbt und eingedampft wird. Es bleibt ein schwach gelbes Öl zurück, das kristallin erstarrt. Smp 26°. LBR: rötlich. E 1,4/11 Dann kommt eine gelbe Zone, deren Lösung eingedampft wird. Der ölige Rückstand wird mit Methanol extrahiert. Die Extrakte werden mit Aktivkohle entfärbt und eingedampft. Es bleibt ein gelbliches Fett zurück. Smp 24°. LBR: violett -- blau -- grün. E 1,4/12 Zum Schluß wird die Säule mit Aceton eluiert. Es kommt eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelbraunes, klares, zähes Öl zurückläßt. LBR: tiefrot -- braun. E 1,4/13

Die Substanz c2 wird durch Chromatographie an Kieselgel mit Chloroform und Aceton gereinigt. Man erhält ein dunkelbraunes, klares, zähes Harz. LBR: tief dunkelrot. E 1,4/14

(d) Die Substanz wird in Aceton heiß gelöst. Beim Abkühlen fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Das Filtrat wird etwas eingedampft und wieder zur Kristallisation abgekühlt. Die gesammelten Niederschläge werden aus wässrigem Aceton unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Gelb-

lichweißes Pulver (d1). Die Filtrate werden zusammen eingedampft. Braunes, klares Wachs (d2).

Die Substanz d1 wird mehrmals umkristallisiert. Man erhält ein weißes Kristallpulver. Smp 53.6°. LBR: keine. E 1,4/15

Die Substanz d2 wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Es wird mit Chloroform solange eluiert, bis die auslaufende Lösung farblos und substanzfrei kommt. Beim Eindampfen bleibt ein gelbliches Fett zurück, das aus Aceton umkristallisiert wird. Das Umkristallisat wird nochmals in Aceton gelöst, mit Aktivkohle aufgekocht, abfiltriert und eingedampft. Es bleibt ein gelbliches Öl zurück, das beim Abkühlen erstarrt. Smp 15°. LBR: orangerot -- bräunlich. E 1,4/16 Das Filtrat wird eingedampft. Es bleibt ein gelbes Öl zurück, das nicht mehr fest wi rd. LBR: orangerot -- bräunlich. E 1,4/17

Nachdem das Chloroform substanzfrei ist, wird die Säule mit Aceton eluiert. Es wandert eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelbraunes, klares Öl zurückläßt. LBR: rotbraun. E 1,4/18

II) Aufarbeitung von E 2

Die Substanz E 2, Smp 75/83°, wird aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Dadurch erhält man ein gelbliches, aromatisch riechendes Pulver. Die so gereinigte Substanz wird mit 10%iger methanolischer Natronlauge fünf Stunden unter Rückfluß verseift. Danach wird der Methanol zur Hälfte abdestilliert und durch Wasser ersetzt. Die trübe, braune Brühe wird ausgeäthert.

A) Unverseifbares

Der gelbbraune Ätherextrakt wird nach dem Waschen mit Natriumsulfat getrocknet und abdestilliert. Es bleibt ein hellbraunes Pulver zurück, das schwach nach Heu riecht. Smp 108-116°. LBR: hellrot -- hellbraun. E 2,1

Die ausgeätherte, alkalische Lösung enthält einen Niederschlag, der abfiltriert wird. Dieses dunkelbraune Pulver ist in Säuren unlöslich und wird nach der Säurebehandlung auch nicht mehr von Äther aufgenommen. LBR: rotbraun -- braun. Smp 65/80°. E 2,2

B) Seifenlösung

Die vom Unverseifbaren und von E 2,2 befreite Lösung wird mit Schwefelsäure angesäuert und ausgeäthert. Der dunkelbraune Ätherextrakt wird gewaschen, getrocknet und abdestilliert. Es bleibt ein kaffeebraunes, aromatisch riechendes Pulver zurück. Smp 43/60°. LBR: braunrot -- braun. E 2,3

In der wässrigen Lösung schwimmt wiederum ein Niederschlag. Dieser wird abfiltriert. Nach dem Trocknen erhält man ein dunkelbraunes Pulver. Smp 175° (plastisch). LBR: rotbraun -- braun. E 2,4

1) Trennung von E 2,1

Die Substanz wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Dann wird mit Chloroform eluiert. Zuerst kommt eine gelbbraune, schmale Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge einer roten Substanz zurückläßt. Diese Substanz wird in $CHCl_3$ gelöst und erneut auf eine eingeschlemmte Aluminiumoxidsäule gegeben. Es läuft eine gelborange und eine violette, breite Zone. Die gelbe Zone hinterläßt beim Eindampfen eine schwach gelbe Substanz, die aromatisch riecht und grüne LBR zeigt (E 2,1/1). Beim Eindampfen der violetten Zone bleibt eine geringe Menge einer roten Substanz zurück, die aromatisch riecht (E 2,1/2).

Die Substanz (E 2,1/1) wird in wenig $CHCl_3$ gelöst, auf eine DC-Platte aufgetragen und mit $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1 chromatographiert. Außer einer Startlinie treten zwei im UV-Licht sichtbare Zonen auf. Diese drei Zonen werden abgekratzt und mit $CHCl_3$ extrahiert. Start: Spur einer bräunlichen Substanz. Keine LBR. E 2,1/1a Zone 1: geringe Menge einer weißen Substanz. LBR: gelbbraun. E 2,1/1b Zone 2: geringe Menge einer farblosen Substanz. LBR: violett -- grün. E 2,1/1c

Die Substanz (E 2,1/2), deren LBR schwach rosa ist, wird in wenig Chloroform gelöst, auf eine DC-Platte aufgetragen und mit $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1 chromatographiert. Außer der Startlinie treten vier Zonen auf, die abgekratzt und mit $CHCl_3$ extrahiert werden.

Start : geringe Menge einer rötlichen Substanz. E 2,1/2a
Zone 1 : geringe Menge einer weißen Substanz. E 2,1/2b
Zone 2 : geringe Menge einer farblosen Substanz. E 2,1/2c
Zone 3 : geringe Menge einer farblosen Substanz. E 2,1/2d

Zone 4 : geringe Menge einer weißen Substanz. E 2,1/2e

Sobald das Chloroform substanzfrei kommt, wird mit $CHCl_3$/CH_3OH = 50:1 eluiert. Es läuft eine breite rötliche Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge einer gelbbraunen, lackartigen Substanz zurückläßt, die eine schwach braune LBR zeigt. Diese Substanz wird mit $CHCl_3$ nochmals an Al_2O_3 chromatographiert. Nach Entwicklung wird mit $CHCl_3/CH_3OH$ = 30:1 eluiert. Die breite gelbbraune Zone hinterläßt beim Eindampfen ein dunkelbraunes Harz. Smp 80/90°. E 2,1/3

Daran schließt sich eine gelbe Zone an, deren Lösung beim Eindampfen ein ockerbraunes Pulver zurückläßt. Smp 118-121°. LBR: schwach rosa. E 2,1/4

Die danach kommende farblose Lösung wird bis zur Substanzfreiheit aufgefangen und eingedampft. Es bleibt ein bräunlichweißes Pulver zurück, das aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert wird. Hellgelbes Pulver. Smp 122-124°. LBR: schwach rosa. E 2,1/5

Zum Schluß wird mit Methanol eluiert. Die Lösung der gelben Zone hinterläßt beim Eindampfen ein gelbbraunes Pulver, das aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert wird. Hellgelbes Pulver. Smp 131.4°. LBR: schwach rosa. E 2,1/6

2) Trennung von E 2,2

Die Substanz wird an Al_2O_3, Akt. I, mit $CHCl_3/CH_3OH$ = 1:1 chromatographiert. Es kommt eine braune Zone, die beim Eindampfen ein dunkelbraunes Pulver zurückläßt. Smp 74/80°. LBR: hellrot -- rotbraun. E 2,2/1

Danach wird mit Methanol eluiert. Die gelbliche Zone hinterläßt beim Eindampfen ein hellbraunes Pulver. Smp 110/120°. LBR: hellrot -- rotbraun. E 2,2/2

Zum Schluß wird mit Aceton/Hac = 1:1 extrahiert. Die Lösung der dunkelbraunen Zone wird mit $CHCl_3$ versetzt und mit Wasser ausgeschüttelt. Die getrocknete $CHCl_3$-Lösung hinterläßt beim Eindampfen ein dunkelbraunes Pulver. Smp 66-70°. LBR: violettrot -- rotbraun. E 2,2/3

3) Trennung von E 2,3

Die Substanz läßt sich nicht weiter auftrennen.

4) Trennung von E 2,4

Die Substanz läßt sich nicht weiter auftrennen.

III) Aufarbeitung von E 3

Die Substanz E 3, Smp 45/60°, wird in wenig Chloroform gelöst und in etwa die zehnfache Menge Petroläther eingerührt. Nach einigem Stehen wird von dem Ausgeschiedenen abgesaugt.

Die Petrolätherlösung wird abdestilliert. Es bleibt ein dunkelbraunes, nach Kaffee riechendes Wachs zurück, das bei 25° schmilzt. E 3,1

Das in PÄ Unlösliche ist ein braunes Harz. Es wird in Aceton gelöst und stehen gelassen. Es fällt ein Niederschlag aus der abgesaugt wird. Dunkelbraunes Harz. Smp 140/160°. E 3,2

Das Filtrat von E 3,2 wird eingedampft. Der hellbraune Rückstand wird aus 96%igem Äthanol umkristallisiert. Ockerfarbenes Pulver. Smp 80-85°. E 3,3

1) Trennung von E 3,1

Die Lösung der Substanz in PÄ wird mit 50%igem Aceton ausgeschüttelt. Die PÄ-Lösung wird getrocknet und weitgehend eingedampft. Die dunkelbraune Lösung wird dann auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben und mit $C_6H_6/CHCl_3$ = 1:1 eluiert.

Zuerst kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine gelbe, wachsige Substanz zurückläßt. Smp 50/60°. LBR: violett -- blau -- grün. E 3,1/1

Nachdem die gelbe Zone ausgelaufen ist, wird mit $CHCl_3$ eluiert. Es wandert wieder eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge einer gelbgrünen Substanz zurückläßt. Diese schmierige Substanz wird mit $CHCl_3$ an Kieselgel gereinigt. Gelbliches Öl. LBR: dunkelgelb. E 3,1/2

Danach wird mit Essigester eluiert. Es kommt wieder eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine gelbe Substanz zurückläßt. Diese Substanz wird mit $CHCl_3$ an Kieselgel gereinigt. Man erhält eine gelbe, krist alline Substanz. Durch mehrmaliges Umkristallisi eren aus Methanol entsteht ein weißes Kristallpulver. Smp 90.4°. LBR: rot -- schmutzig -- grün. E 3,1/3

Bei der Eluierung mit Methanol läuft eine bräunliche Zone,

deren Lösung beim Eindampfen ein braunes Harz zurückläßt. Diese Substanz wird mit $CHCl_3$ an Kieselgel gereinigt. Dabei bleibt die eigentliche Substanz am Säulenkopf hängen und muß nach Auswaschen der Verunreinigungen mit Methanol eluiert werden. Die Lösung der braunen Zone wird mit $CHCl_3$ ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung hinterläßt beim Eindampfen ein rotbraunes Harz. LBR: weinrot -- rotbraun. E 3,1/4

Zum Schluß wird die Säule mit CH_3OH/Hac = 1:1 ausgewaschen. Die Lösung der braunen Zone hinterläßt beim Eindampfen ein braunes Pulver. Dieses wird mit $CHCl_3$ an Kieselgel gereinigt. Ohne Zonenbildung kommt eine gelbliche Lösung, die beim Eindampfen weißgelbe Kristalle zurückläßt. Diese werden mehrmals aus Methanol umkristallisiert. Weißes Kristallpulver. Smp 65.5°. Keine LBR. E 3,1/5

2) Trennung von E 3,2

Die Substanz wird in Chloroform gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Eluiert wird mit Chloroform.

Es läuft eine breite, dunkelbraune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelbraunes Harz zurückläßt. Smp 22o°(plastisch). LBR: tief dunkelrot -- rotbraun. E 3,2/1

Daran schließt sich eine gelbe Zone an, deren Lösung beim Eindampfen eine gelbe, wachsige Substanz zurückläßt. LBR: rötlich. E 3,2/2

Zum Schluß wird die Säule mit Aceton eluiert. Es wandert eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelbraunes Wachs zurückläßt. Smp 89-95°. LBR: tief dunkelrot -- rotbraun. E 3,2/3

3) Trennung von E 3,3

Die Substanz wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Kieselgelsäule gegeben. Eluiert wird mit $CHCl_3$. Zuerst kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine gelbbraune, wachsige Substanz zurückläßt. Smp 75/85°. LBR: hellrot -- rötlich. E 3,3/1

Danach wird mit $CHCl_3$/Aceton = 2:1 eluiert. Es läuft eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen einen rotbraunen Lack zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Aceton erhält man ein gelbes Pulver. Smp 8o/92°. LBR: tief rot -- rotbraun. E 3,3/2

Zum Schluß wird mit Methanol ausgewaschen. Es läuft eine breite, braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen einen rotbraunen Lack zurückläßt. Durch Umkristallisieren aus Äthanol erhält man ein hellbraunes Pulver. Smp 7o/8o°. LBR: violettrot -- violettbraun. E 3,3/3

IV) Aufarbeitung von E 4

Die Substanz E 4 wird kalt mit Aceton erschöpfend extrahiert Die gelbbraunen Extrakte werden zusammen abdestilliert. Es bleibt eine braune Schmiere zurück, die beim Abkühlen zu einem Wachs erstarrt, das nach Kaffee riecht und einen muscheligen Bruch zeigt (A). Der Rückstand der Extraktion ist ein braunes, geruchloses Pulver (B).

(A) Aceton-Lösliches

Die Substanz wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Nach dem Einsickern wird mit Chloroform eluiert.

Zuerst kommt eine farblose Lösung, die beim Eindampfen ein gelbes Fett zurückläßt. LBR: violett -- blau -- grün. E 4,1

Danach folgt eine gelbgrüne Zone, die aus mehreren Unterzonen besteht und deren Lösung beim Eindampfen eine grüngelbe Masse zurückläßt, die nach Pflanze riecht. LBR: tiefrot -- braun. E 4,2

Sobald diese Zone ausgelaufen ist, wird mit Aceton eluiert. Es kommt ohne Zonenbildung eine gelbe Lösung, die beim Eindampfen ein gelbbraunes Öl zurückläßt, in dem Kristalle schwimmen. LBR: tiefrot -- violettbraun. E 4,3

1) Trennung von E 4,1

Die Rohfraktion wird in Aceton gelöst, mit Aktivkohle versetzt, aufgekocht und abfiltriert. Das Filtrat wird eingedampft, wobei ein gelbes Fett zurückbleibt, das in $CHCl_3$ gelöst und an Al_2O_3 chromatographiert wird. Die auslaufende, farblose Lösung läßt beim Eindampfen ein gelblich gefärbtes, bläulich fluoreszie rendes Fett zurück. LBR: violett -- blau -- grün. E 4,1

2) Trennung von E 4,2

Die Rohfraktion wird in PÄ eingerührt. Es fällt ein Niederschlag (a) aus, der abgesaugt wird. Das Filtrat (b) wird eingedampft, wobei ein gelbgrünes Öl zurückbleibt.

(a) Der weiße Niederschlag wird in Aceton gelöst. Zu der Lösung wird langsam PÄ bis zur beginnenden Trübung gegeben. Die ausgefallenen, farblosen Nadeln werden abgesaugt. Smp 232°. Keine LBR. E 4,2/1

(b) Das gelbgrüne Öl wird in $CHCl_3$ gelöst und mehrmals mit Wasser ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wird abgelassen, getrocknet und eingedampft. Das zurückbleibende, gelbbraune Öl wird in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Nach Entwicklung des Chromatogramms wird mit $CHCl_3$ eluiert. Nach einem substanzfreien Vorlauf kommt eine orangegelbe Zone, deren Lösung eingedampft wird. Es bleibt ein oranges Öl (b1) zurück. Danach wird solange mit $CHCl_3$ weiter eluiert, bis die auslaufende Lösung farblos kommt. Beim Eindampfen bleibt ein dunkelgelbes Öl zurück (b2). In der Säule bleibt eine grünbraune Zone hängen, die mit Aceton herausgelöst und zu der Rohfraktion E 4,3 gegeben wird.

(b1) Das orange Öl wird in wenig Aceton gelöst, bis zur beginnenden Trübung mit Methanol versetzt und dann in Eis gestellt. Es fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt und mehrmals aus Aceton/methanol umkristallisiert wird. Weiße, körnige Kristalle. Smp 77.4°. LBR: violett -- blau -- grün. E 4,2/2

Das Filtrat von E 4,2/2 wird eingedampft. Es bleibt ein oranges Öl zurück, das in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. IV basisch, gegeben wird. Zuerst wird mit PÄ eluiert. Es kommt ei ne hellgelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein zähes, gelbes Öl zurückläßt, das grünliche Fluoreszenz und Pflanzengeruch zeigt. LBR: tiefrot -- braun -- grün -- braun. E 4,2/3 Dann folgt eine weitere gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein orangegelbes Öl zurückläßt, das ebenfalls grünlich fluoresziert und nach Pflanze riecht. LBR: rot -- rotbraun. E 4,2/4 Zum Schluß wird die Säule mit Chloroform eluiert. Es wandert eine orangegelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein zähes, oranges Öl mit Pflanzengeruch zurückläßt. LBR: tiefrot -- rotbraun. E 4,2/5

(b2) Das dunkelgelbe, grün fluoreszierende Öl wird in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. IV basisch, gegeben. Zuerst wird mit PÄ eluiert und es kommt eine hellgelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge eines gelben Öls zurückläßt. LBR: tiefrot -- braun. E 4,2/6 Darauf folgt eine weitere hellgelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge eines gelben, grün fluoreszierenden Öls zurückläßt. LBR: orange -- rot -- braun. E 4,2/7 Zum Schluß wird mit $CHCl_3$ eluiert. Es kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes, zähes, grün fluoreszierendes Öl zurückläßt. LBR: orange -- rot. E 4,2/8

3) Trennung von E 4,3

Die Rohfraktion wird in $CHCl_3$ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. I, gegeben. Nach dem Einsickern wird mit Chloroform eluiert.

Zuerst kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes Öl zurückläßt (a).

Daran schließt sich eine gelbgrüne Lösung an, die beim Eindampfen ein grüngelbes Öl zurückläßt (b).

Als nächste folgt eine grünliche Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein braungrünes Öl zurückläßt.(c).

Sobald das auslaufende Chloroform farblos ist, wird mit Methanol eluiert. Es kommt eine grünbraune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein grünbraunes Öl zurückläßt (d).

(a) Dieses hellgelbe Öl, das an der Luft allmählich dunkel wird, läßt sich wegen der geringen Menge nicht weiter auftrennen. LBR: rot -- rotbraun. E 4,3/1

(b) Das grüngelbe Öl wird mit dem gleichen Volumen Methanol versetzt und auf -40° abgekühlt. Es fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Für eine Weiterverarbeitung ist seine Menge zu gering. Das Filtrat hingegen wird eingedampft. Es bleibt ein gelbes Öl zurück, das in $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1 gelöst und mit diesem Lösungsmittel an Kieselgel chromatographiert wird. Nach einem farblosen, substanzfreien Vorlauf kommt eine gelbgrüne Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt. Dieses Öl wird in $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1 gelöst und mit diesem Lösungsmittel an Al_2O_3, Akt. IV basisch, chromatographiert. Zuerst kommt eine gelbgrüne Zone, die zu (c) gegeben

wird. Danach kommt eine schwach gelbliche Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine kleine Menge eines gelben Öls zurückläßt. LBR: gelb -- orange -- braun. E 4,3/2

(c) Das braungrüne, dünnflüssige Öl wird mit dem gleichen Volumen Methanol versetzt und aufgekocht. Es scheidet sich ein braunes Öl ab, von dem abdekantiert wird. Es wird mehrmals mit Methanol ausgekocht. Dieses Öl erstarrt zu einem braunen, durchsichtigen und fettig riechenden Wachs. Dieses wird in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt.IV basisch, gegeben. Zuerst wird mit PÄ eluiert. Es kommt eine hellgelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge eines gelblichen Öls zurückläßt. LBR: gelb -- grünbraun -- grüngelb. E 4,3/3 Dann wird mit $CHCl_3$ eluiert. Es kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes Harz zurückläßt. LBR: orange -- tiefrot -- rotbraun. E 4,3/4 Danach wird mit $CHCl_3/CH_3OH$ = 1:1 eluiert. Es kommt eine gelbbraune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbbraunes, festes und durchsichtiges Harz zurückläßt. LBR: rot -- rotbraun. E 4,3/5 Zum Schluß wird die Säule mit Methanol eluiert. Es wandert eine braune Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge eines braunen Harzes zurückläßt. LBR: orange -- rot. E 4,3/6

Die Dekantate werden etwas eingeengt und auf -30° abgekühlt. Es fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Durch Einengen und Abkühlen erhält man weitere Portionen dieses Niederschlages. Dieser dunkelgelbe Niederschlag wird aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle umgefällt. Die schließlich gelbliche Lösung der Substanz wird eingedampft. Der gelbweiße Rückstand wird mit PÄ versetzt, aufgekocht und abgesaugt. Rein weiße Kristalle. Sm 231°. Keine LBR. E 4,3/7

Das Filtrat von E 4,3/7 wird eingedampft. Es bleibt ein rotbraunes Öl zurück, das in $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1 gelöst und mit diesem Lösungsmittel an Kieselgel chromatographiert wird. Zuerst kommt eine rotbraune Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein rotbraunes Öl zurückläßt (c1). Dann folgt eine gelbliche Lösung, die beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt (c2). Beide Öle werden mit dem selben Lösungsmittel nochmals an Al_2O_3, Akt, IV basisch, chromatographiert. Dadurch erhält man aus (c1) ein orangegelbes Öl, dessen LBR

tiefrot -- rotbraun ist. E 4,3/8 Aus (c2) erhält man ein gelbes Öl mit süßlichem Geruch. LBR: orange -- rot -- rotbraun. E 4,3/9

(d) Das grünbraune, dünnflüssige Öl wird mit dem gleichen Volumen Methanol versetzt und auf -3o° abgekühlt. Es fällt ein Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Dieser gelbbraune Niederschlag wird mehrmals aus Methanol unter Zusatz von Aktivkohle umkristallisiert. Man erhält schließlich farblose Kristallnadeln. Smp 134.5°. LBR: violett -- blau -- grün. E 4,3/1o

Das Filtrat von E 4,3/1o wird eingedampft. Es bleibt ein braunes Öl zurück, aus dem sich nach einigem Ste hen Kristalle abscheiden. Diese werden abgesaugt und in Methanol unter Zusatz von Aktivkohle gelöst. Nach dem Aufkochen wird filtriert. Das Filtrat wird eingedampft. Der Rückstand wird mit PÄ ausgekocht. Das in PÄ Unlösliche bildet weiße Kristallnadeln vom Smp 231°. Keine LBR. E 4,3/11

Das Filtrat von E 4,3/11 wird eingedampft. Es bleibt ein braunes Öl zurück, das in PÄ gelöst und auf eine Al_2O_3-Säule, Akt. IV basisch, gegeben wird. Bei der Eluierung mit PÄ kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein gelbes Öl zurückläßt. LBR: orange -- rot -- braun. E 4,3/12

Danach wird mit $CHCl_3$ eluiert. Es kommt eine gelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen ein dunkelgelbes Öl zurückläßt. LBR: tiefrot -- braun. E 4,3/13

Zum Schluß wird mit Methanol eluiert. Es kommt eine braungelbe Zone, deren Lösung beim Eindampfen eine geringe Menge eines dunkelgelben Öls zurückläßt. LBR: tiefrot -- rotbraun. E 4,3/14

(B) Aceton-Unlösliches

Das braune Pulver, das nur in $CHCl_3$ vollständig löslich ist, wird zwei Tage im Soxhlet mit PÄ exzrahiert. Man erhält einen gelben Extrakt und als Rückstand ein braunes Pulver.

Der Extrakt wird eingedampft. Es bleibt eine gelbe, von Kristallen durchsetzte Schmiere zurück. Diese wird aus Aceton, zum Schluß unter Zusatz von Aktivkohle mehrmals umkristallisiert. Man erhält schließlich ein weißes Pulver. Smp 63.5°. LBR: schwach grünlich. E 4,4/1

Der Rückstand der PÄ-Extraktion wird in Soxhlet mit Benzol extrahiert. Man erhält einen dunkelrotbraunen Extrakt und als Rückstand eine schwarzbraune Schmiere.

Der Benzolextrakt scheidet beim Stehen über Nacht einen dunkelbraunen, schmierigen Niederschlag aus, von dem abfiltriert wird. Das so erhaltene, schwach gelbe Filtrat wird abdestilliert. Es bleibt ein bräunliches Wachs zurück. Dieses Wachs wird in heißem Aceton gelöst und die Lösung langsam abkühlen lassen. Es scheidet sich ein weißer Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Nach dem Trocknen erhält man ein gelblichweißes Pulver. Smp 67.6°. LBR: schwach rötlich -- farblos. E 4,4/2

Das gelbliche Filtrat von E 4,4/2, das sich auch mit Aktivkohle nicht mehr entfärben läßt, wird eingedampft. Es bleibt ein gelbliches Öl zurück, das beim Abkühlen zu einem Wachs erstarrt. Durch Zerkleinern erhält man ein gelbes, krümeliges Pulver. Smp 57.3°. LBR: rotorange -- rot -- braun. E 4,4/3

Der Rückstand der Benzolextraktion wird mit Chloroform extrahiert. Beim Abdestillieren des dunkelbraunen Extraktes bleibt eine dunkelbraune Schmiere zurück, die nach dem Erkalten zu einem dunkelbraunen Pulver zerkleinert werden kann. Smp 11o-12o°. Diese Substanz wird zweimal mit einem Gemisch aus 33o ml Eisessig und 2o ml konz. Salzsäure ausgekocht. Beim Absaugen bleibt auf dem Filter ein schwarzbraunes Pulver zurück.

Die beiden Extrakte werden zusammengegeben und mit Aktivkohle entfärbt. Man erhält eine gelbliche Lösung, die auf 15o ml im Vakuum abdestilliert wird. Diese eingeengte Lösung scheidet beim Abkühlen einen Niederschlag aus, der abgesaugt wird. Das Filtrat wird auf 5o ml eingeengt, abgekühlt und wieder abgesaugt. Die beiden Filterrückstände werden nochmals aus wenig 8o%iger Essigsäure umkristallisiert. Weißes, kristallines Pulver. Smp 69.5°. Keine LBR. E 4,4/4

Der Rückstand der Essigsäureextraktion ist ein schwarzes Pulver, das in keinem Lösungsmittel mehr löslich ist. Kein Smp. Keine LBR. Brennt mit rußender Flamme. E 4,4/5

Die Substanz E 4,4/5 ist in keinem Lösungsmittel mehr löslich, wird durch Schwefelsä ure verkohlt, kann nicht verseift werden. Lediglich mit halbkonzentrierter Salpetersäure tritt eine Reaktion ein:

lo g der Substanz werden in 2oo ml Salpetersäure suspendiert und solange gekocht, bis unter Entweichen nitroser Gase eine Gelbfärbung der Lösung eintritt und auf ihr eine plastische, orange Masse schwimmt. Diese Masse wird beim Abkühlen fest. Sie wird abgehoben, zerkleinert und mit Wasser nitratfrei gewaschen. Nach dem Trocknen wird das orange Pulver nacheinander mit PÄ, PÄ/C_6H_6, C_6H_6 und $CHCl_3$ ausgekocht. Von dem Rückstand wird jedesmal abfiltriert. Die Filtrate werden zusammengegeben, mit Aktivkohle entfärbt und abdestilliert. Es bleibt ein grünliches Öl zurück, das beim Abkühlen kristallin erstarrt. Nach Umkristallisieren aus Aceton erhält man rein weiße Kristalle. Keine LBR. Smp 74°. E 4,4/5a

Der Filterrückstand wird in Aceton gelöst und mit konz. Salzsäure versetzt. Nach einigem Stehen scheidet sich ein Niederschlag ab, der abgesaugt und säurefrei gewaschen wird. Keine LBR. Das orangerote Pulver wird ab 2oo° schwarz und zeigt bis 32o° keinen Schmelzpunkt. E 4,4/5b

V) Aufarbeitung von E 5

Die Substanz wird in Chloroform gelöst und vom Unlöslichen abgesaugt. Das Filtrat wird zu E 4 gegeben. Das Unlösliche ist ein graubraunes Pulver, das sich nirgends mehr löst. Beim Anzünden verglimmt die Substanz wie Zunder, der Geruch erinnert an verbrannten Kork. Offensichtlich handelt es sich bei dieser Substanz um Pflanzenteile.

Die zum Nachweis verwendeten Reagenzien und die Reaktionen der einzelnen Substanzen

a) Reagenzien

R o Universal-Reagens

Mischung aus 2 Teilen $SnCl_4$, 16 Teilen Eisessig und 16 Teilen Tetrachlorkohlenstoff. Nach dem Sprühen wird 5 min auf 100° erhitzt. Mit Sterinen, Harzen, Terpenen und verschiedenen anderen Verbindungen treten Färbungen auf.

R 1 Nachweis von Ketonen und Aldehyden

o.4%ige Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2n Salzsäure. Substanzen mit freier Aldehyd- oder Ketogruppe geben intensiv gefärbte Flecken auf schwach gelbem Hintergrund.

R 2 Nachweis von Ketosteroiden

a) 10% m-Dinitrobenzol in Benzol
b) 6 g NaOH + 25 ml Wasser + 45 ml Methanol
Es wird zuerst mit Lösung a) und nach kurzem Antrocknen mit Lösung b) gesprüht. Ketosteroide geben blaue bis violette Färbungen, je nach Stellung der Ketogruppe.

R 3 Nachweis von Aldehyden

In eine o.5%ige Lösung von Fuchsin in Wasser wird solange SO_2 eingeleitet, bis Entfärbung eingetreten ist. Aldehyde reagieren unter Rot- und Violettfärbung. Nicht sicher!

R 4 Nachweis von Aldehyden

Man sprüht das Chromatogramm mit einer gesättigten Lösung von o-Dianisidin in Eisessig. Schon in der Kälte entsteht eine schwaahe Färbung, die beim Erhitzen intensiver wird. Es treten gelbe, rote und violette Farbtöne auf.
Ketone stören nicht, sofern sie nur als geringe Verunreinigung vorhanden sind.

R 5 Nachweis von Phenolen und reduzierenden Verbindungen

Das Reagens wird hergestellt durch Vermischen gleicher Teile einer 1%igen $FeCl_3$-Lösung und einer 1%igen $K_3Fe(CN)_6$-Lösung. Phenole reagieren unter Dunkelblaufärbung, die s o f o r t auftritt, während reduzierende Verbindungen erst langsam eine Blaufärbung entwickeln.

R 6 Nachweis von Phenolen und Flavonoiden

a) 5 g Benzidin + 14 ml konz. HCl + 980 ml Wasser
b) 10%ige Natriumnitrit-Lösung

Vor Gebrauch wird a) und b) im Verhältnis 3:2 gemischt. Es entstehen gelbe bis rote Färbungen. Sehr spezifisch!

R 7 Nachweis von Säuren und Basen

Lösung von 100 mg 2,6-Dichlorphenolindophenol in Äthanol

Säuren bilden rote Flecken auf blauem Grund. Basen reagieren unter Hellblaufärbung.

Dieses Reagens ist besser geeignet als die sonst übliche 0.05%ige Lösung von Bromphenolblau in Methanol.

R 8 Nachweis lipophiler Substanzen

0.5%ige Lösung von Rhodamin B in Wasser. Fettsäuren und Fettalkohole, Lipide, Kohlenwasserstoffe geben rötliche Flecken, die bei Betrachtung im UV-Licht rotbraun auf orangem Hintergrund erscheinen.

R 9 Nachweis von Doppelbindungen

a) Eine 1%ige Lösung von Kaliumpermanganat und eine 2%ige Sodalösung werden im Verhältnis 1:1 gemischt. Es erscheinen gelbe Flecken auf violettem Grund.

b) 1%ige Lösung von Dextrin in 30%igem Alkohol. Nach dem Sprühen wird das Chromatogramm in eine wasserdampfgesättigte Atmosphäre gebracht (1 h). Dann behandelt man mit Joddampf. Ungesättigte Verbindungen geben gelbe bis braune Färbungen. Der Untergrund ist blau. Gesättigte Verbindungen geben weiße Flecken.

R 10 Nachweis von Estern

a) 20 g Hydroxylaminhydrochlorid werden in 50 ml Wasser gelöst und mit 95%igem Äthanol auf 200 ml aufgefüllt.
b) 50 g KOH werden in möglichst wenig Wasser gelöst und mit 95%igem Äthanol auf 500 ml verdünnt.
c) 10 g Eisen(III)chlorid-hexahydrat werden in 20 ml 10 n Salzsäure gelöst und mit 300 ml Äther geschüttelt bis eine homogene Lösung entsteht.

Vor Gebrauch wird a) und b) im Verhältnis 1:2 gemischt und von dem ausgefallenen KCl abfiltriert. Das Chromatogramm wird gleichmäßig mit dieser Lösung besprüht, kurz getrocknet und dann mit c) besprüht.
Es entstehen purpurne bis rotbraune Flecken auf gelbem Grund.

R 11 Nachweis von Enolen und Ketolen

Eine 2%ige Lösung von TTC in Wasser wird mit 10%iger Natronlauge im Verhältnis 2:1 gemischt. Bei Enolen, Ketolen und Dienonen tritt nach dem Sprühen eine Rotfärbung auf.

R 12 Nachweis von Phosphatiden

a) 5 ml 6o%iger Perchlorsäure + 25 ml 4%iger Ammonmolybdatlösung + lo ml ln Salzsäure + 6o ml Wasser. Nach dem Besprühen wird 7 min auf 85° erhitzt. Organische Phosphate erscheinen als dunkelblaue Flecken. Anorganische Phosphate zeigen eine gelbgrüne Färbung.

b) Das Chromatogramm wird mit einer o.1%igen Lösung von $FeCl_3$ in 8o%igem Äthanol besprüht und getrocknet. Dann wird mit einer 1%igen Lösung von Sulfosalicylsäure in 8o%igem Äthanol besprüht. Phosphate erscheinen als weiße Flecken auf hellviolettem Grund.

R 13 Nachweis von primären Aminen

Das Chromatogramm wird mit einer o.2%igen Lösung von Ninhydrin in Methanol besprüht und auf 6o° erwärmt. Es erscheinen rote bis violette Flecken.

R 14 Nachweis von sekundären Aminen

5 g Natriumnitroprussid + lo ml Acetaldehyd + 9o ml Wasser. Vor der Benutzung setzt man dem Reagens 2% Soda zu. Nach dem Besprühen erscheinen sekundäre Amine als blaue Flecken.

R 15 Nachweis von quartären Aminen

8 g KJ werden in 2o ml Wasser gelöst und zu einer Lösung von 85o mg basischem Wismutnitrat in 4o ml Wasser und lo ml Eisessig gegeben. Diese Stammlösung ist in einer braunen Flasche einige Monate haltbar.

Das Chromatogramm wird mit einer Mischung aus lo ml Stammlösung, 2o ml Eisessig und loo ml Wasser besprüht. Es treten rote Flecken auf gelbem Grund auf.

R 16 Nachweis von Sulfhydryl- und Disulfidgruppen

a) 1.5 g Nitroprussidnatrium werden in 5 ml 2n HCl gelöst. Nach Zugabe von 95 ml Methanol und lo ml Ammoniak wird filtriert.
b) 2 g NaCN werden in 5 ml Wasser gelöst und mit 5o%igem Methanol auf loo ml aufgefüllt.

Beim Besprühen mit a) werden SH-Verbindungen als rote Flecken sichtbar.
Beim darauffolgenden Besprühen mit b) erscheinen SS-Verbindungen als rote Flecken auf gelbem Grund.

R 17 Nachweis von Aldosen

o.93 g Anilin und 1.66 g o-Phtalsäure werden in loo ml wassergesättigtem n-Butanol gelöst. Nach dem Besprühen wird lo min auf lo5° erwärmt.
Aldosen erscheinen als gelbbraune Flecken mit ebensolcher UV-Fluoreszenz.

R 18 Nachweis von Ketosen

a) Eine o.2%ige Naphtoresorcinlösung in Aceton wird knapp vor dem Besprühen mit 3n Phosphorsäure im Verhältnis 5:1 vermischt. Das Chromatogramm wird nach dem Besprühen bei 9o° im Trockenschrank getrocknet. Ketosen geben blaue bis rote Flecken.

b) 5 g Harnstoff werden in 2o ml 2n Salzsäure und loo ml Äthanol gelöst. Nach dem Besprühen erscheinen Ketosen und ketosenhaltige Oligosaccaride als blaue Flecken.

R 19 Nachweis von Glykolipiden

2o ml lo%ige alkoholische Diphenylaminlösung + loo ml konz. Salzsäure + 8o ml Eisessig.
Nach dem Besprühen wird 3o min auf lo5° erhitzt. Man erhält blaugraue Flecken auf fast ungefärbtem Grund.

R 2o Nachweis von Linolensäure und -estern

Das Chromatogramm wird mit einer gesättigten Lösung von Pikrinsäure in Eisessig besprüht und erhitzt. Es tritt eine Rotfärbung auf.

R 21 Nachweis von Stickstoffverbindungen und Furan

Das Chromatogramm wird mit einer 1%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in einer Mischung aus 95 ml Äthanol und 5 ml Salzsäure besprüht. Nach dem Erhitzen treten gelbe bis violette Färbungen auf.

R 22 Nachweis von α,ß-ungesättigten Karbonylverbindungen

4o mg p-Aminodimethylanilin·$SnCl_2$ werden in loo ml Methanol gelöst. Mit diesem Reagens geben Verbindungen wie $R-(CH=CH)_2-CHO$ gelbe bis blaue Färbungen. Die entsprechenden Ketone geben nur orangerote Farben.

R 23 Nachweis von Steroiden und Carotinoiden

22 g Antimon(III)chlorid werden in loo ml Chloroform gelöst und mit 2 ml Acetanhydrid versetzt.
Steroide geben orange bis rotviolette Färbungen, Carotinoide dagegen blaue Färbungen.

R 24 Nachweis von Sterinen

Das Chromatogramm wird mit einer Mischung aus konz. Schwefelsäure und Eisessig im Verhältnis 1:1 besprüht. Nach Erhitzen auf 9o° (15 min) geben Sterine und Sterinester rote Flecken auf weißem Grund.

R 25 Nachweis reduzierender Steroide und Glykoside

lo ml o.1n Silbernitratlösung + 2o ml konz. Ammoniak + 5 ml lo%iger Natronlauge. Es entstehen braune bis braunschwarze Flecken.

R 26 Nachweis von Flavonoiden

2 g Vanillin + 1 g Toluol-p-sulfosäure + 1oo ml Äthanol. Nach dem Besprühen wird 5-1o min auf 1oo° erhitzt. Die Fleckenfarbe ist rosa bis violettrot.

R 27 Nachweis α,ß-ungesättigter Lactone

1 g Nitroprussidnatrium + 4 g NaOH + 1oo ml 5o%iger Äthanol.
Nach dem Besprühen treten rote bis rotviolette Färbungen auf.

R 28 Nachweis von Allylverbindungen

1 ml einer 1o%igen alkoholischen Phloroglucinlösung wird mit 9 ml konz. Salzsäure vermischt.
Nach dem Besprühen treten Allylverbindungen als gelbe bis rote Flecken hervor.

R 29 Nachweis von Glycerin

Die Substanz wird mit Kaliumhydrogensulfat vermischt und erhitzt. Das entstehende Akrolein gibt auf einem mit R 4 getränktem Filterpapier einen gelben bis braunroten Fleck.

R 3o Nachweis von Ergosterin

Die Probe wird in 1o ml Chloroform gelöst und mit 1 ml Eisessig und 2.5 ml einer 1o%igen Lösung von Brom in Chloroform versetzt. Die nach einigem Schütteln auftretende Grünfärbung ermöglicht den Nachweis von 1 mg Ergosterin neben 1 g Cholesterin oder Phytosterin.

R 31 Nachweis von Oxysäuren

o.5 g Diphenylcarbazid werden in 1oo ml Tetrachloräthan gelöst, erwärmt und nach dem Abkühlen filtriert.
Nach dem Besprühen treten Oxyfettsäuren als rote Flecken hervor.

R 32 Nachweis von Stickstoff

Mischung einer 1%igen Lösung von Sulfanilsäure in 3o%iger Essigsäure mit einer solchen von o.1% α-Naphtylamin in 3o%iger Essigsäure.
Die Substanz wird mit Braunstein vermischt und trocken erhitzt. Dabei entsteht HNO_2, die ein mit dem Reagens befeuchtetes Filterpapier Rot färbt. Sehr empfindlich und sicher.

R 33 Nachweis von Alkoholen

1 ml einer Lösung, die 1 mg/ml Vanadin enthält, wird mit 1 ml einer 2.5%igen Lösung von Oxin in 6%iger Essigsäure versetzt. Die Mischung wird mit 3o ml Benzol ausgeschüttelt.
Man mischt 1 Tropfen der Probe mit 4 Tropfen des Reagens und erwärmt im Wasserbad auf 6o°. Nach kurzer Zeit tritt ein Farbumschlag von Graugrün nach Rot auf.

R 34 Nachweis von Sterinen und Resenen

Die Lösung der Probe in Chloroform wird mit Acetanhydrid und Schwefelsäure versetzt. Bei Sterinen tritt eine Grünfärbung, bei Resenen eine rote Farbe auf. Nicht spezifisch!

R 35 Nachweis von Coffein

Das Chromatogramm wird zuerst mit einer alkoholischen Jod-Jodkali-Lösung und dann mit einer Mischung aus Methanol und 25%iger Salzsäure im Verhältnis 1:1 besprüht. Es tritt eine rötliche Färbung auf.

R 36 Nachweis von Zellulose

Die Substanz wird trocken erhitzt. Das entstehende Furfurol färbt ein mit einer 1o%igen Lösung von Anilin in 1o%iger Essigsäure getränktes Filterpapier rot. Sehr empfindlich!

b) Reaktionen

1) Reaktionen der Substanzen von E 1

Subst.	UV-L.	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 1o
1,1/1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
1,2/1	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
4	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
6	weiß	+	-	+++	+	-	-	-	+	+	+
7	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
8	weiß	+	-	++	+	-	-	-	+	+	+
9	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
1o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
12	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
13	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+
14	weiß	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
15	gelb	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
16	gelb	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
17	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
18	gelb	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
19	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
2o	gelb	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
1,3/1	weiß	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
2	gelb	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
1,4/1	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
3	gelb	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
4	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
5	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
6	weiß	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+++
7	gelb	+	+	-	-	-	-	-	+	++	+
8	gelb	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	weiß	-	-	-	-	++	+	-	+	+	+
1o	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
11	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
12	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
13	gelb	-	-	-	-	++	+	-	-	+	+
14	gelb	-	-	-	-	++	+	-	-	+	+
15	weiß	-	-	-	-	-	-	s	+	-	-
16	weiß	-	-	-	-	-	-	s	+	++	-
17	weiß	-	-	-	-	-	-	s	+	++	-
18	gelb	-	-	-	-	-	-	s	+	+	-
B	-	-	-	-	-	-	-	b	-	-	-

s = sauer
b = basisch

Reaktionen der Substanzen von E 1 (Forts.)

Subst.	R 11	R 12	R 15	R 16	R 17	R 18	R 19	R 2o	R 21	R 23
1,1/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	viol	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	viol	-
1,2/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	++	-	-	-	-	(+)	rot	-	viol
4	-	++	-	-	-	-	(+)	rot	viol	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	rot
6	(+)	+	(+)	-	-	+	+	-	rosa	-
7	-	++	-	-	-	-	+	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	rot
1o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	(+)	+	(+)	-	+	-	+	-	blau	-
13	(+)	-	(+)	-	-	-	-	-	viol	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	blau	-
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	-	-	-	-	-	viol	-
2o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,3/1	-	-	-	-	-	-	-	-	viol	viol
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,4/1	-	-	-	-	-	-	-	-	resa	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	rotv
3	-	-	-	-	-	-	-	rot	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	blau	blau	rot
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	rot
6	+	++	-	SH	+	+	+	grün	viol	rot
7	-	-	(+)	-	+	-	-	oliv	viol	braun
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	++	++	-	SS+SH	-	-	+	-	viol	rot
1o	-	-	-	-	-	-	+	grün	viol	rosa
11	-	-	-	-	-	-	-	grün	blau	rosa
12	-	-	-	-	-	-	-	grün	-	braun
13	-	-	+	-	+	+	-	grün	viol	braun
14	-	-	-	-	+	+	-	grün	viol	braun
15	-	-	-	-	-	-	-	-	---	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	rosa
17	-	-	-	-	-	-	-	-	rot	rosa
18	-	-	-	-	-	-	-	-	braun	braun
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mit R 13, R 14 und R 22 reagiert keine der Substanzen.

Vergleich der Substanzen mit grüner LBR

Subst.	R 2	R 8	R 2o	R 23	R 24	R 25
1,2/2	-	rotviol.	-	violett	bräunl.	-
3	gelb	"	rot	violett	violett	braun
5	-	"	-	rötlich	rot	-
6	-	"	-	braun	rot	braun
7	-	"	-	braun	braun	-
9	-	"	-	rotviol.	rotviol.	braun
1,4/2	gelb	"	-	rotviol.	rotviol.	braun
3	-	"	rot	violett	br.viol.	-
12	-	"	grün	rötlich	rosa	bräunl.
Sito-sterin	-	"	-	rotviol.	rotviol.	braun

Nachweis von Glycerin (R 29). Positive Reaktion bei:

E 1,1/1	E 1,2/2	E 1,3/1	E 1,4/6
2	3		7
	6		9
	7		lo
	8		11
	11		12
	12		13
	13		14
	16		

Nachweis von Ergosterin (R 3o)

Es wurden alle Substanzen mit grüner LBR getestet. Der Nachweis fiel bei allen negativ aus.

Nachweis von Oxysäuren (R 31)

Es wurden alle Substanzen getestet. Es ließ sich keine Oxysäure nachweisen.

Nachweis von Stickstoff (R 32)

Außer den unter R 15 angegebenen Substanzen enthält auch die Substanz B Stickstoff.

2) Reaktionen der Substanzen von E 2

	E 2,1	/3	/4	/5	/6	2,2/1	/2	/3	2,3	2,4
UV'L	weiß	weiß	weiß	weiß	gelb	gelb	gelb	gelb	gelb	gelb
R 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 5	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
R 6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R 7	-	-	-	-	-	-	-	s	s	-
R 8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
R 9	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+
R 1o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 12	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-
R 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 15	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-
R 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 2o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 21	viol	viol	viol	viol	viol	purp	purp	purp	-	-
R 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
R 23	braun	oliv braun		-	braun	braun	braun	braun	braun	braun
R 25	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
R 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Die Mengen der Substanzen E 2,1/1a, /1b, /1c und E 2,1/2a, /2b, /2c, /2d, /2e sind für die Nachweisreaktionen zu gering.

3) Reaktionen der Substanzen von E 3

Subst.	UV-L	R 1	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 1o	R 11
3,1/1	weiß	+	+	+	-	(+)	-	+	+	+	(+)
2	weiß	+	-	-	-	-	b	-	+	+	-
3	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
4	gelb	-	-	-	+	+	b	-	+	-	-
5	-	-	-	-	-	-	s	+	-	-	-
3,2/1	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
3	gelb	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-
3,3/1	gelb	-	-	-	+	+	b	+	++	+	-
2	gelb	-	-	-	+	+	-	-	++	-	-
3	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-

Subst.	R 18	R 19	R 2o	R 21	R 22	R 23	R 24	R 25	R 26
3,1/1	-	-	rötl	rosa	-	orang	blau	+	-
2	-	-	viol	grün	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	viol	viol	+	-
4	-	-	grün	viol	-	-	-	-	+
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3,2/1	-	-	-	rosa	-	-	-	-	-
2	(+)	(+)	-	purp	-	-	-	-	-
3	-	-	rot	viol	-	-	-	-	-
3,3/1	-	-	gelb	rot	-	-	-	-	-
2	-	-	rötl	purp	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Mit R 2, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 27 tritt keine Reaktion ein.

Nachweis von Ergosterin (R 3o)

Es wurden die Substanzen mit grüner LBR getestet. Der Test fiel negativ aus.

Nachweis von Glycerin (R 29)

Der Test fiel bei allen Substanzen negativ aus.

Nachweis von Oxysäuren (R 31)

Der Test fiel bei allen Substanzen negativ aus.

4) Reaktionen der Substanzen von E 4

Subst.	UV-L.	R 1	R 2	R 3	R 4	R 5	R 6	R 7	R 8	R 9	R 1o
4,1	weiß	-	-	-	-	-	br.	-	+	+	-
4,2/1	-	-	-	-	-	-	-	b	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
3	weiß	+	-	-	-	-	+	b	+	++	+
4	gelb	+	+	-	-	(+)	+	b	+	+	+
5	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
6	weiß	+	-	-	-	-	+	-	+	+++	+
7	gelb	+	+	-	-	-	+	b	+	++	-
8	gelb	+	+	-	-	-	+	b	+	++	+
4,3/1	weiß	+	+	-	-	-	+	b	+	++	+
2	gelb	+	+	-	-	-	+	b	+	+	+
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
4	gelb	-	-	-	-	(+)	-	b	+	+	+
5	gelb	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-
6	gelb	-	-	-	-	(+)	-	-	-	+	-
7	-	-	-	-	-	-	-	b	-	-	-
8	gelb	++	-	-	-	-	-	s	+	+++	+++
9	weiß	+	+	-	-	-	-	s	+	+++	+
1o	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	b	-	-	-
12	weiß	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+
13	weiß	-	-	-	-	-	-	s	+	+++	+++
14	weiß	-	-	-	-	-	-	s	+	+	+
4,4/1	-	-	-	-	-	-	-	s	+	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	s	+	-	(+)
3	-	-	-	-	-	-	-	s	+	-	(+)
4	-	-	-	-	-	-	-	s	+	-	-

Mit R 13 und R 14 tritt keine Reaktion ein.

	E 4,2/2	E 4,3/1o
R 23	orangerot	rotviolett
R 24	rot	rotviolett
R 25	-	braun
R 28	-	-

Nachweis von Glycerin (R 29)

Positive Reaktion nur bei E 4,3/1.

Nachweis von Ergosterin (R 3o)

Es wurden die Substanzen mit grüner LBR getestet. Der Test fiel negativ aus.

Nachweis von Oxysäuren (R 31)

Der Test ist nur bei E 4,3/8 positiv!

Fortsetzung der Tabelle

Subst.	R 11	R 12	R 15	R 16	R 17	R 18	R 19	R 2o	R 21	R 22	R 27
4,1	-	-	-	-	-	-	-	orange	-	-	-
4,2/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	-	+	-	-	-	-	-	viol	+	-
4	(+)	-	+	-	-	-	-	grün	viol	+	-
5	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	+	-
6	-	-	-	-	-	+	-	orang	rot	+	-
7	(+)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	(+)	++	-	-	-	-	grün	viol	+	-
4,3/1	++	(+)	+	SS	-	+	-	-	rot	+	-
2	-	(+)	(+)	-	-	+	+	grün	viol	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	+	+	grün	rot	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	+	-	-	+	+	grün	rot	+	+
9	-	-	+	-	-	+	+	grün	rot	+	+
1o	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	+	+	+	-	rötl	-	-
13	-	-	+	-	+	(+)	+	grün	blau	+	+
14	-	-	-	-	-	(+)	-	grün	blau	-	-
4,4/1	-	-	-	-	-	-	-	grün	viol	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	grün	viol	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Nachweis von Stickstoff (R 32)

Der Nachweis fiel positiv aus bei E 4,2/1; 4,3/7; 4,3/11; 4,4/5 und bei den unter R 15 angegebenen Substanzen.

Nachweis von Alkoholen (R 33)

Der Test fiel positiv aus bei E 4,1!

Oxydation von E 4,1 mit CrO_3 in Hac

Die Substanz wird unter heftigem Schütteln in Hac emulgiert und solange mit kleinen Portionen einer Lösung von CrO_3 in Hac versetzt, bis eine Mischfarbe bestehen bleibt. Nach einigem Stehen wird die Lösung bis zur Trübung mit Wasser versetzt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Die abgelassene, gewaschene Chloroformschicht wird getrocknet und abgedampft. Es bleibt eine braune Schmiere zurück, die mit Chloroform an Kieselgel gereinigt wird. Man erhält ein gelbes Öl, das leicht aromatisch riecht und keine LBR zeigt. Mit R 1 tritt Reaktion unter Gelbfärbung ein.

Reaktionen der Substanz E 4,4/5b

Diese Substanz ist nur in Aceton vollständig löslich. Die Lösung kann beliebig mit Wasser verdünnt werden. Bei Verdünnung mit anderen Lösungsmitteln fällt ein Niederschlag aus. Bemerkenswert ist, daß sich diese Substanz glatt und rasch in Natronlauge und Sodalösung mit rotbrauner Farbe löst; mit Säure kann sie wieder ausgefällt werden. Alle diese Lösungen schäumen beim Schütteln.

Farbe am Tageslicht: orangegelb
Farbe im UV - Licht: rötlich
Positive Reaktionen mit: R 6, 7, 9, 25, 32. Mit allen anderen Reagenzien negativ.
$FeSO_4$, $FeCl_3$, $CuSO_4$, Gelatine werden gefällt.
Durch CrO_3/Hac erfolgt Oxydation.
Nach Methylierung mit Dimethylsulfat spricht R 15 positiv an.
Bei der Titration mit n/2o-Natronlauge ergibt sich, daß 44o mg Substanz 1 mg Wasserstoffionen enthält. Da sich das Molekulargewicht nicht bestimmen läßt, kann die Zahl der Karboxylgruppen nicht festgestellt werden.

5) Reaktionen von E 5

Der Nachweis von Stickstoff (R 32) und Zellulose (R 36) fällt bei dieser Substanz positiv aus.

Identifizierung einzelner Substanzen durch Auswertung von Verbrennungsanalysen, IR-Spektren und Reaktionen

B = Coffein

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 232°		Smp 232°	
5o.3o% C	$(C_4H_5ON_2)_n$	5o.3 % C	$C_8H_{1o}O_2N_4$
5.15% H	MG nach Rast:	5.1 % H	MG: 194
16.5o% O	2oo.3	16.5 % O	
28.o5% N	n = 2	28.o5% N	

Positive Murexidreaktion. Im DC ident. mit Coffein.

E 1,1/1 = 1:3-Distearin

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 68.5°	$(C_8H_{15}O)_n$	Smp 74°	$C_{39}H_{76}O_5$
76.1o% C	MG nach Ras t:	75.o% C	MG: 624
11.85% H	645.3	12.1% H	
12.o5% O	n = 5	12.8% O	

Das IR-Spektrum ist identisch mit dem von synthetisch dargestelltem 1:3-Distearin. Charakteristisch sind folgende Funktionen: -COOR, =CHOH, Diglycerid, $-(CH_2)_4-$, C_{18} Im DC läuft die Substanz mit 1:3-Distearin gleich. Durch die Reagenzein läßt sich COOR und Glycerin nachweisen.

E 1,1/2 = Diglycerid (Ölsäure)

Bestimmt: berechnet:

Durch die Reagenzien läßt sich COOR, Glycerin und Doppelbindung nachweisen. Aus dem IRS ergeben sich folgende Funktionen: -COOR, nicht konjugierte Doppelbindung (cis), =CHOH, Diglycerid, $-(CH_2)_4-$. Die Bandenprogre ssion ist nicht ausgebildet. Sie findet sich in dieser Art bei Ölsäureglyceriden (51).

E 1,2/1 = n-Paraffin

Sowohl aus den Reaktionen als auch aus dem IRS geht hervor, daß es sich bei dieser Substanz um ein unverzweigtes Paraffin handelt. Vermutlich liegt ein Gemisch vor.

E 1,2/5 = Stearinsäure-sitosterinester

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 76-77°	$(C_{16}H_{29}O)_n$	Smp ?	
81.22% C	MG nach Rast:	8o.5% C	$C_{47}H_{86}O_2 \cdot H_2O$
12.21% H	695.2	12.5% H	MG: 7oo
6.57% O	n = 3	6.8% O	

Durch die Reagenzien läßt sich die COOR-Gruppe und das Steringerüst nachweisen. Das IRS ist identisch mit dem von synthetisch dargestelltem Sitosterinstearat. Auch im DC ergeben sich gleiche R_f-Werte.

E 1,2/9 = Palmitinsäure-sitosterinester

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 89-9o°	$(C_9H_{17}O)_n$	Smp ?	$C_{45}H_{82}O_2 \cdot 3\ H_2O$
77.58% C	MG nach Rast:	76.27% C	MG: 7o8
11.44% H	696.7	12.4 % H	
1o.98% O	n = 5	11.3 % O	

Durch die Reagenzien läßt sich die COOR-Gruppe und das Steringerüst nachweisen. IM IRS ergibt sich die Kettenlänge aus der Bandenprogression z/u C_{16}. Sonst hat das Spektrum weitgehende Ähnlichkeit mit dem von Sitosterinstearat.

E 1,4/2 = Sitosterin

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 139-14o°	$(C_{15}H_{27}O)_n$	Smp 143°	
8o.82% C	MG nach Rast:	8o.1% C	$C_{29}H_{51}OH \cdot H_2O$
11.97% H	42o.8	12.4% H	MG: 434
7.21% O	n = 2	7.3% O	

Durch die Reagenzien läßt sich lediglich das Steringerüst nachweisen. Das IRS der Substanz stimmt mit dem von anderweitig hergestelltem Sitosterin überein, ebenso der R_f-Wert im DC.

E 1,4/11 = 1:3-Diolein

Smp 26° (theoret. 25°)
Aus den Reaktionen ergeben sich die Funktionen: -COOR, Doppelbindung und Glycerin. Durch Auswertung des IRS erhält man die Funktionen: -COOR, Diglycerid, =CHOH und Doppelbindung. Im DC läuft die Substanz in gleicher Höhe mit synth. 1:3-Diolein.

E 1,4/15 = Myristinsäure $C_{13}H_{27}COOH$

Smp 53.6° (theoret. 53.8°)
Aus den Reaktionen läßt sich nur entnehmen, dass es sich um eine Fettsäure handelt. Im DC läuft die Substanz in gleicher Höhe mit Myristinsäure. Aus dem IRS ergibt sich durch Auswertung der Bandenprogression die Kettenlänge zu C_{14}.

E 3,1/3 = Palmitinsäure-sitosterinester
Sowohl die Reaktionen als auch das IRS sind identisch mit denen von E 1,2/9.

E 3,1/5 = Stearinsäure

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 65.5°	$(C_9H_{17}O)_n$	Smp 69.6°	$C_{17}H_{35}COOH$
75.82% C	MG nach Rast:	76.0% C	MG: 284
12.45% H	289.2	12.6% H	
11.73% O	n = 2	11.3% O	

Aus den Reaktionen kann nur auf eine Fettsäure geschlossen werden. Im DC ergibt sich der gleiche R_f-Wert wie bei Stearinsäure. Die Bandenprogression deutet auf C_{18} hin.

E 4,1 = ungesättigter sekundärer Alkohol $C_{14}H_{25}OH$

Bestimmt:		berechnet:	
80.69% C	$(C_{14}H_{26}O)_n$	80.0% C	$C_{14}H_{25}OH$
11.81% H	MG nach Rast:	12.3% H	MG: 210
7.50% O	200.1 n = 1	7.6% O	

Aus den Reaktionen ergeben sich die Funktionen: Doppelbindung, sek.Alkohol. Im IRS lassen sich nachweisen: konj. Doppelbindung (cis,trans), $-(CH_2)_4-$, CHOH in hochsymm. Alkoholen, zweifach unges. sek. Alkohol, OH-Chelation (51). Das IRS der Substanz nach der Oxydation mit CrO_3 zeigt eine Bande für das Fragment $-CH_2-CO-CH_2-$, dagegen sind die Alkoholbanden verschwunden.

E 4,2/1 = Coffein

Die Substanz ist im DC identisch mit Coffein.

E 4,2/2 = Stearinsäure-sitosterinester

Die Substanz ist hinsichtlich Reaktionen, DC und IRS mit E 1,2/5 identisch.

E 4,3/7 und E 4,3/11 = Coffein

Beide Substanzen sind im DC mit Coffein identisch.

E 4,4/1 = Behensäure

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 78.5° nach MZS		Smp 79.9°	
78.10% C	$(C_{11}H_{22}O)_n$	77.6% C	$C_{21}H_{43}COOH$
12.80% H	MG nach Rast:	12.9% H	MG: 340
9.10% O	352 n = 2	9.4% O	

Aus den Reaktionen kann lediglich auf eine Fettsäure geschlossen werden. Im IRS kann die Kettenlänge ungefähr aus der Bandenprogression abgelesen werden. Im DC lassen sich die Säuren über C_{20} nicht mehr unterscheiden.

E 4,4/2 = Montansäure

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 88.5° nach MZS		Smp 9o.9°	
77.o4% C	$(C_9H_{18}O)_n$	76.o% C	$C_{27}H_{55}COOH \cdot H_2O$
12.21% H	MG nach Rast:	13.1% H	MG: 442
lo.75% O	435.8 n = 3	lo.8% O	

Die Substanz zeigt lediglich eine saure Reaktion. Im IRS läßt die Bandenprogression keinen Schluß auf die Kettenlänge zu. Im DC läßt sich keine Unterscheidung treffen.

E 4,4/3 = Lignocerinsäure

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 8o° nach MZS		Smp 84.1°	
76.17% C	$(C_8H_{16}O)_n$	74.5% C	$C_{23}H_{47}COOH \cdot H_2O$
11.97% H	MG nach Rast:	12.9% H	
11.86% O	4oo.1 n = 3	12.4% O	

Aufgrund der Reaktionen stellt die Substanz eine Säure dar. Weder das IRS noch die Verbrennung lassen einen eindeutigen Schluß auf Lignocerinsäure zu. Lediglich die MZS-Analyse macht dies wahrscheinlich.

E 4,4/4 = Arachinsäure

Bestimmt:		berechnet:	
Smp 75° nach MZS		Smp 75.3°	
77.o5% C	$(C_{1o}H_{2o}O)_n$	76.9% C	$C_{19}H_{39}COOH$
12.99% H	MG nach Rast:	12.8% H	MG: 312
9.96% O	321.2 n = 2	lo.2% O	

Durch die Reaktionen läßt sich nur die COOH-Gruppe nachweisen. Im IRS kann aus der Bendenprogression die Kettenlänge zu C_{2o} bestimmt werden.

E 4,4/5 = Phlobaphen

Die Verbrennung liefert die Werte: 69.98% C 17.30% O
8.94% H 3.78% N

Daraus ergibt sich: $(C_{21-22}H_{33-34}O_4N)_n$. Da sich die Substanz nicht löst, können weder n noch Reaktionen bestimmt werden. Aus dem IRS läßt sich entnehmen, daß es sich um ein ungesättigtes Keton handelt, das noch Hydroxylgruppen und wenig Methylgruppen enthält.

E 4,4/5a = Arachinsäure

Die Reaktionen und das IRS der Substanz stimmen mit denen von E 4,4/4 überein.

E 4,4/5b

Bei dieser Substanz scheint es sich um ein Oxydationsprodukt des Phlobaphens zu handeln. Das IRS hat weitgehende Ähnlichkeit mit dem von E 4,4/5.

Technische Einzelheiten

1) Mikrozonenschmelzen (MZS-Verfahren)

Die Substanzen wurden in Röhrchen von 1.9 mm Ø eingeschmolzen. Die Ziehgeschwindigkeit betrug 1 mm/h. Jeder Versuch dauerte 84 Stunden. Danach wurden die Schmelzpunkte entlang des Schmelzlings bestimmt.

2) Säulenchromatographie

Das Adsorptionsmittel wurde, wenn nichts anderes angegeben ist, trocken in die Säulenrohre eingefüllt. Durch Aufstoßen wurde für ein gleichmäßiges Absitzen gesorgt.

Die jeweils aufgebrachte Substanzmenge betrug etwa 3% des Adsorbensgewichtes. Auf diese Weise wurde ein Durchbrechen der Säulen ver-mieden. Die Dimensionierung der Säulen richtete sich nach der Substanzmenge.

In der Mehrzahl der Fälle wurde neutrales Aluminiumoxid der Aktivitätsstufe I von WOELM verwendet. Gelegentlich kamm

auch das basische Aluminiumoxid der Aktivitätsstufe IV zur Anwendung. Außer Aluminiumoxid wurde hin und wider auch Kieselgel MERCK (o.o5 - o.2 mm) gebraucht, vor allem dann, wenn zu befürchten war, daß vom Aluminiumoxid entweder die Substanzen zu stark adsorbiert werden oder das Lösungsmittel verändert wird (z.B. Aceton).

3) Dünnschichtchromatographie (DC)

Jeweils 5 Platten (2o cm x 2o cm) wurden mit einem Brei aus 3o g Kieselgel G (MERCK) und 6o g Wasser bestrichen. Die Schichtdicke betrug o.25 mm. Die Plat ten wurden 3o min im Trockenschrank bei llo° getrocknet und vor der Verwendung mindestens 24 Stunden durch Stehenlassen gealtert, damit sich ein gleichmäßiger Aktivitätsgrad einstellt und die Chromatogramme einigermaßen reproduzierbar werden. Als Standard wurde immer Sitosterin mitlaufen lassen.

Als Systeme wurden verwendet:

S 1: $CHCl_3/C_6H_6$ = 4:1. Da in diesem System die meisten Substanzen gut laufen, wurde es als Standard-System verwendet.

S 2: $CHCl_3/CH_3OH$ = 95:5

S 3: $CHCl_3/C_6H_6/CH_3OH$ = 6:3:1

S 4: Äthylacetat/i-Propanol/Wasser = 65:24:11

Die in den Abbildungen der DC gebrauchten Abkürzungen bedeuten:

Bl	= Blau	GeBr	= Gelbbraun
bl	= bläulich	Or	= Orange
Br	= Braun	R	= Rot
br	= bräunlich	r	= rötlich
BrOr	= Braunorange	ro	= rosa
Ge	= Gelb	RBr	= Rotbraun
ge	= gelblich	RV	= Rotviolett
G	= Grau	V	= Violett
Gr	= Grün		

4) Aufnahme der IR-Spektren (IRS)

Zur Aufnahme der IR-Spektren mit dem PERKIN-ELMER Doppelstrahlgerät E 21 wurden die Substanzen zwischen Kochsalzfenstern passender Größe aufgeschmolzen und nach dem Abkühlen in festem Zustand durchstrahlt. Lediglich von der nichtschmalzenden Substanz E 4,4/5 (Phlobaphen) wurde ein KBr-Pressling hergestellt.

Die Auswertung der Spektren erfolgte nach BELLAMY (5o), in der Hauptsache jedoch nach Originalarbeiten über Glyceride und Fettsäuren von O'CONNOR (51), JONES (52), CHAPMAN (53) und MEIKLEJOHN (54).

Literaturverzeichnis

(1) ROBIQUET und BOUTRON, A. 23, 93 (1837)

(2) F. ROCHLEDER, Ann. Chem. u. Pharm. 5o, 224 (1844)

(3) C.O. CECH, J.prakt.Chem. 22, 395 (188o)

(4) G.de NEGRI und G. FABRIS, Z.anal.Chem. 33, 547 (1894)

(5) A. HILGER und A. TRETZEL
Forschungsber. Lebensm. 1, 42 (1893)

(6) A. HILGER, Chemiker Zeitg. 1895, 776

(7) E. SPÄTH, Chemiker Zeitg. 1895, 292

(8) E. HERFELDT u. A. STUTZER, Z.angew.Chem. 1895, 469

(9) W.L.A. WARNIER, Z.Unters.Nahrungs- u. Genußm. 18, 616(19o9)

(1o) A. JUCKENACK u. A. HILGER,
Forschungsber. Lebensm. 4, 119 (1897)

(11) H. MEYER u. A. ECKERT, Monatshefte 31, 1227 (191o)

(12) L. von NOEL, Pharm. Zentralhalle 7o, 69 (1929)

(13) L. von NOEL u. F. DANNMEYER,
Strahlentherapie 32, 769(1929)
38, 583(193o)

(14) R.O. BENGIS u. R.J. ANDERSON, J.biol.Chem. 97, 99(1932)

(15) R.O. BENGIS u. R.J. ANDERSON, J.biol.Chem. 1o5, 139(1934)

(16) A. HEIDUSCHKA u. R. KUHN, J.prakt.Chem. 139, 27o (1934)

(17) K.H. SLOTTA u. K. NEISSER, B. 71, 1991 (1938)

(18) K.H. SLOTTA u. K. NEISSER, B. 71, 2342 (1938)

(19) H. HAUPTMANN u. J. FRANÇA
Z.physiol.Chem. 259, 245 (1939)
J. Am. Chem. Soc. 65, 81 (1943)

H. HAUPTMANN, SAWAYA, L. LACERDA
Qimica 1, 181 (1942)

H. HAUPTMANN, J. FRANÇA, L. BRUCK-LACERDA
J. Am. Chem. Soc. 65, 993 (1943)

(2o) J. FRANÇA, Quimica 1, 141 (1942)

(21) A. WETTSTEIN, F. FRITZSCHE, F. HUZIKER, K. MIESCHER
Helv. Chim. Acta 24, 332 E (1941)
A. WETTSTEIN, K. MIESCHER
Helv. Chim. Acta 25, 718 (1942)
26, 631 (1943)
26, 788 (1943)
A. WETTSTEIN, K. MIESCHER, M. SPILLMANN
Helv. Chim. Acta 28, 1004 (1945)

(22) P.N. CHAKRAVORTY, M.M. WESNER
J. Am. Chem. Soc. 64, 2235 (1942)
P.N. CHAKRAVORTY, M.M. WESNER, R.H. LEVIN
J. Am. Chem. Soc. 65, 929, 1325 (1943)

(23) G. FERRARI, Farm. sci. e tec. 6, 726 (1951)
7, 134 (1952)

(24) C. DJERASSI, E. WILFRED, L. VISCO, A.J. LEMIN
J. Org. Chem. 18, 1449 (1953)

(25) H. BENDAS u. C. DJERASSI, Chem. & Ind. 1955, 1481

(26) R.D. HAWORTH, A.H. JUBB, J. McKENNA
Chem. & Ind. 1954, 104
R.D. HAWORTH, R.A.W. JOHNSTONE
Chem. & Ind. 1956, 168
J. Chem. Soc. 1957, 1492

(27) C. DJERASSI, M. CAIS, L.A. MITSCHER
J. Am. Chem. Soc. 81, 2386 (1959)

(27a) H.P. KAUFMANN, R.S. HAMSAGAR
Fette,Seifen,Anstrichmittel 64, 206, 734 (1962)
H.P. KAUFMANN, A.K. SEN GUPTA
Fette, Seifen, Anstrichmittel 65, 529 (1963)

(28) H. WAGNER, Z, Unters. Lebensm. 76, 1, 449 (1938)
77, 225 (1939)

(29) K.H. BAUER u. R. NEU
Fette u. Seifen 45, 229 (1938)
49, 419 (1942)
50, 345 (1943)
51, 343 (1944)

(3o) Th. SABALITSCHKA, S. von SCHÜCHING
Deutsche Apoth. Zeitg. 53, 76o (1938)

(31) N.A. KHAN, J.B. BROWN
J. Am. Oil Chemists' Soc. 3o, 6o6 (1953)

(32) RUBENS DESCARTES DE G.PAULA
Anais assoc. quim. Brasil 2, 57 (1943)

(33) E. ERDMANN, B. 35, 1846 (19o2)

(34) V. GRAFE, Monatshefte 33, 1391(1912)

(35) A. MICHL, G. HABERLER, Monatshefte 85, 779 (1954)

(36) C.E. BARBERA, Coffee and Tea Inds. 79, 12 (1956)

(37) G. PICTET, H. BRANDENBERGER, J. Chrom. 4, 396 (196o)

(38) C.P. NATARAJAN, J. Sci. Ind. Res. 16c, 2, 42 (1957)

(39) J.W. RHOADES, Food Research 23, 254 (1958)

(4o) J.H. SULLIVAN, D.H. ROBERTSON, C. MERRITT Jr. ,
Division of Agricultural and Food Chemistry,
135th Meeting, ACS, Boston/Mass. April 1959.

(41) A. ZLATKIUS, M. SIVETZ, Food Research 25, 395 (196o)

(42) A.H. WARTH, The Chemistry and Technology of Waxes
Reinhold Publ. Corp. New York, 2.Aufl. 1956

(43) I. Haselmann, Diplomarbeit, Erlangen 1961

(44) I.M. HAIS, K. MACEK, Handbuch der Papier-
chromatographie Bd. I, VEB G. Fischer, Jena 1958

(45) E. STAHL, Dünnschichtchromatographie, Springer 1962

(46) F. FEIGL, Qual. Analysis by Spot Tests, 3. Auflage,
New York, Elsevier Inc. 1947

(47) T. REICHSTEIN, H. STAUDINGER, Exper. VI, 28o (195o)

(48) H. SCHILDKNECHT, H. VETTER, Angew. Chem. 73, 612 (1961)

(49) H. SCHILDKNECHT, H. VETTER, Angew. Chem. 71, 723 (1959)

(5o) L.J. BELLAMY, Ultrarotspektren und chemische
Konstitution, D. Steinkopf, Darmstadt 1955

(51) R.T. O'CONNOR
J. Am. Oil Chemists' Soc. 32, 88 (1955)

(52) R.N. JONES, R.G. SINCLAIR, A.F. McKAY
J. Am. Chem. Soc. 74, 257o, 2575, 2578 (1952)

(53) D. CHAPMAN, J. Chem. Soc. 1952, 2715
1956, 55, 2522
Nature 176, 216 (1955)

(54) R.A. MEIKLEJOHN, Anal. Chem. 29, 329 (1957)

(55) A. RUSSELL, Chem. Rev. 17, 155 (1935)

Lebenslauf

Am 28. Juli 1934 wurde ich als Sohn des Pressezeichners Otto L. Haselmann und seiner Ehefrau Else, geb. Danner, in Nürnberg geboren.

Nach Besuch der Volksschulen in Nürnberg, Immenstadt und Fischbach von 1941 bis 1946 wurde ich 1946 in das Realgymnasium Nürnberg aufgenommen, wo ich im Juli 1954 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1954/55 immatrikulierte ich mich an der Universität Erlangen-Nürnberg für das Chemie-Studium. Am 21. November 1957 bestand ich die Diplomchemiker-Vorprüfung und am 19. Januar 1960 die Diplomchemiker-Hauptprüfung. Anschließend fertigte ich die Diplomarbeit und die vorliegende Dissertation am Institut für Organische Chemie an.

Im Oktober 1962 habe ich geheiratet.

Fotodruck

— Wiltrud Hogl, Erlangen Brüxer Straße 9, Telefon 1636 —